VISIT…

LANZAROTE
Caliente.COM

А.Б. РУБИН, В.П. ШИНКАРЕВ

ТРАНСПОРТ ЭЛЕКТРОНОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

А.Б. РУБИН, В.П. ШИНКАРЕВ

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
МОСКОВСКОЕ ОБЩЕСТВО ИСПЫТАТЕЛЕЙ ПРИРОДЫ

А. Б. РУБИН, В. П. ШИНКАРЕВ

ТРАНСПОРТ ЭЛЕКТРОНОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ





ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»
МОСКВА 1984

УДК 577.3 : 577.31

Р у б и н А. Б., Ш и н к а р е в В. П. **Транспорт электронов в биологических системах.** М.: Наука, 1984.

Монография посвящена рассмотрению физико-химических проблем трансформации энергии в биомембранах при дыхании и фотосинтезе. Приведены современные представления об организации электронтранспортных цепей митохондрий, хлоропластов и хроматофоров. Особое внимание уделено сопоставлению электронтранспортных комплексов различных групп организмов. Анализируются кинетические и термодинамические особенности переноса электронов в мультиферментных комплексах. Рассмотрена кинетика переноса электронов в фотосинтетических реакционных центрах фототрофных бактерий и зеленых растений.

Книга представляет интерес для биофизиков, биохимиков, а также химиков и физиков, изучающих проблемы биоэнергетики и биокинетики.

Табл. 11, ил. 75, библиогр. 505 назв.

Ответственный редактор
доктор биологических наук
А. А. КОНОНЕНКО

Р $\frac{2001040000-193}{042(02)-84}$ 221-84-II

© Издательство «Наука», 1984 г.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Исследование механизмов преобразования энергии при дыхании и фотосинтезе в значительной степени основано на анализе кинетики окислительно-восстановительных реакций переносчиков электронов в окислительной (дыхательной) и фотосинтетической электронтранспортных цепях. Эти переносчики расположены в энергопреобразующих мембранах и, как правило, объединены в мультиферментные комплексы строго определенного состава и структуры, в которых задана последовательность переноса электронов от одной молекулы к другой. Для анализа транспорта электронов в таких комплексах неприменимы как обычный кинетический анализ, основанный на предположении о столкновительном характере взаимодействия молекул, так и обычный термодинамический анализ, поскольку скорость переноса электронов в комплексах не зависит от объемной концентрации индивидуальных переносчиков, а определяется концентрацией комплексов в соответствующих состояниях.

Нами подробно излагается способ описания кинетики транспорта электронов в комплексах переносчиков. Он может быть непосредственно обобщен для любых ферментативных реакций, протекающих в мультиферментных комплексах; применение его иллюстрируется на примере анализа фотосинтетического транспорта электронов.

В первой главе рассмотрены современные представления об организации фотосинтетических и дыхательных электронтранспортных цепей. Особое внимание уделено структурно-функциональным особенностям электронтранспортных комплексов у различных групп организмов и их сопоставлению друг с другом.

Главы, со второй по восьмую, посвящены формулировке и анализу кинетической модели переноса электронов в комплексах, сравнению различных кинетических моделей транспорта электронов в биологических системах, а также вопросам термодинамического описания окислительно-восстановительных реакций в комплексах.

Введение понятия состояния всего комплекса как упорядоченного набора состояний отдельных переносчиков позволяет сформулировать кинетическую модель в виде цепи Маркова с дискретным набором состояний и непрерывным временем, описываемой системой линейных обыкновенных дифференциальных

уравнений первого порядка. Разработанная модель позволяет прямо учесть кооперативные эффекты, заключающиеся в том, что скорость переноса электрона между двумя переносчиками зависит от состояния и других переносчиков, входящих в данный комплекс. Специфическими особенностями описания являются независимость скорости переноса электронов от концентрации переносчиков, а также то, что число состояний комплекса и соответственно число уравнений экспоненциально возрастают при увеличении числа переносчиков в комплексе.

При анализе данного описания будут рассмотрены, в частности, следующие вопросы.

Как связаны между собой закон действующих масс, применимый к подвижным переносчикам, и модель, описывающая перенос электронов в структурных комплексах?

В каких случаях вместо уравнений относительно состояний всего комплекса можно использовать уравнения относительно состояний отдельных переносчиков, составляющих комплекс?

В чем различие между обычным термодинамическим описанием окислительно-восстановительных реакций подвижных переносчиков и описанием переноса электронов в комплексах переносчиков?

Основное внимание будет уделено переносу электронов при фотосинтезе, поскольку в фотосинтетической электронтранспортной цепи имеется уникальная возможность практически мгновенно «запускать» процесс переноса электронов с помощью света, что является неоспоримым преимуществом при кинетическом анализе.

Первые восемь глав посвящены общим вопросам переноса электронов в биологических системах и поэтому могут представить интерес для всех, кто в своей работе сталкивается с необходимостью кинетического анализа транспорта электронов. В последующих пяти главах рассмотрены вопросы, касающиеся описания переноса электронов в комплексах реакционных центров при фотосинтезе:

Сформулирована обобщенная модель переноса электронов в ближайшем донорно-акцепторном окружении фотосинтетических реакционных центров (ФРЦ). На основе этой модели рассмотрены стационарные и переходные характеристики переноса электронов в ФРЦ. Проведенный кинетический анализ показывает, что функциональное устройство ФРЦ обеспечивает его готовность к использованию очередного кванта света за счет поддержания донорной части в восстановленном, а акцепторной — в окисленном состояниях. Далее рассмотрена кинетика редокс-превращений переносчиков ФРЦ в хроматофорах пурпурных бактерий в окислительных и восстановительных условиях. Особое внимание уделяется анализу функционирования вторичного хинонного акцептора ФРЦ пурпурных бактерий. Подробно охарактеризованы двухтактные колебания концентраций семихи-

ионной формы вторичного хинона и на основе кинетического *анализа* оценен квантовый выход разделения зарядов в реакционных центрах.

Книга основана на исследованиях, проводившихся в последние 10 лет на кафедре биофизики биологического факультета МГУ. Написание книги стало возможным лишь благодаря многолетнему сотрудничеству и многочисленным дискуссиям с П. С. Венедиктовым, которому авторы выражают свою признательность.

Авторы считают своим приятным долгом выразить благодарность А. А. Кононенко, чьи советы во многом способствовали нашей работе над книгой, а также А. А. Константинову, сделавшему ряд ценных замечаний по первой главе.

В процессе работы над книгой мы пользовались помощью и советами целого ряда товарищей и сотрудников, которым выражаем свою искреннюю признательность: С. И. Аксенову, С. Д. Варфоломееву, М. И. Верховскому, Т. Н. Воробьевой, А. Я. Мулкиджаняну, И. И. Поттосину, Н. Ф. Пытьевой, Г. Ю. Ризниченко, В. Д. Следь, А. Д. Соловьеву, О. Н. Шинкаревой.

СПИСОК СОКРАЩЕНИИ

АДФ, АТФ — аденозин-5-ди и трифосфат
БАЛ — британский антилюизит (2,3-димеркаптопропанол)
Бхл — бактериохлорофилл
Бф — бактериофеофитин
ДЦКД — N,N'-дициклогексилкарбодиимид
KoQ, Q — кофермент Q (убихинон)
ЛДАО — лаурилдиметиламинооксид
НАД — никотинамидадениндинуклеотид
НАДФ — никотинамидадениндинуклеотидфосфат
PQ — пластохинон
PC — пластоцианин
СДГ — сукцинатдегидрогеназа
СМЧ — субмитохондриальные частицы
ССК — светособирающий комплекс
ТМФД — *N,N,N',N'* — тетраметилпарафенилендиамин
УГДБТ — 5-*н*-ундецил-6-гидрокси-4,7-диоксобензогиазол
$Ф_н$ — неорганический фосфат
ФАД — флавинадениндинуклеотид
Фд — Ферредоксин
ФМН — флавинмононуклеотид
ФМС — N-метилфеназинметосульфат
ФРЦ — фотосинтетический реакционный центр
ФС I — фотосистема I
ФС II — фотосистема II
Фф — феофитин
ЦЭТ — цепь электронного транспорта
$\Delta\bar{\mu}H^+$ — трансмембранная разность электрохимических потенциалов ионов водорода

Глава 1

ПЕРЕНОС ЭЛЕКТРОНОВ И ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ЭНЕРГИИ

В этой главе кратко рассмотрены свойства и характеристики электронтранспортных цепей митохондрий, хлоропластов и хроматофоров, в которых энергия окислительно-восстановительных реакций используется для синтеза АТФ.

1.1. Общая характеристика преобразования энергии в биомембранах

В течение последних 15—20 лет стало ясно, что процессы преобразования энергии при электронном транспорте в мембранах митохондрий, хлоропластов, хроматофоров и некоторых бактерий обладают фундаментальным сходством [Грин, Гольдбергер, 1968; Скулачев, 1972; Ленинджер, 1974; Рэкер, 1979]. Было выяснено, что во всех этих системах реализуется единый принцип сопряжения переноса электронов по цепи электронного транспорта с синтезом АТФ [Скулачев, 1972; Mitchell, 1966; Harold, 1977; Hauska, Trebst, 1977; Рэкер, 1979]. Этот принцип иллюстрирует рис. 1, на котором показано, что перенос электронов по электронтранспортной цепи приводит к переносу протонов

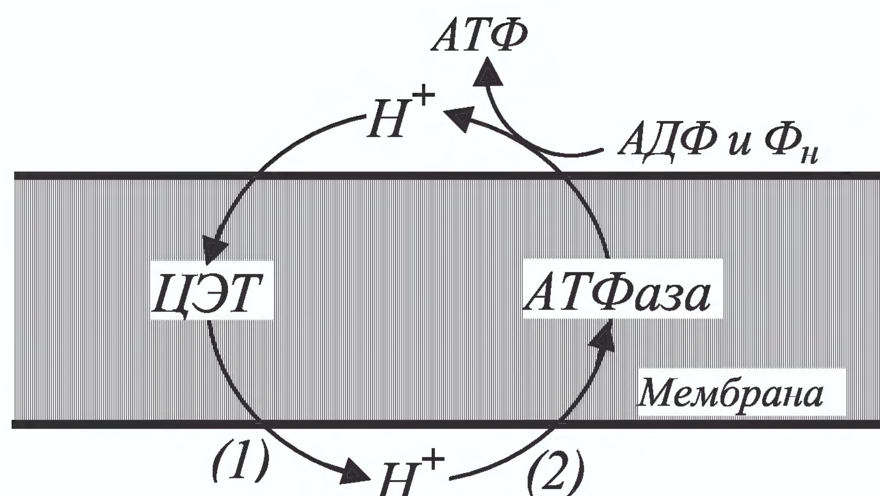


Рис. 1. Схема превращения энергии в биомембранах [Skulachev, 1981]
Цепь электронного транспорта (1), используя энергию окислительно-восстановительных реакций, транспортирует протоны через мембрану против их электрохимического потенциала. Образующаяся таким образом трансмембранная разность электрохимических потенциалов ионов водорода используется АТФ-синтетазой (2) для синтеза АТФ из АДФ и $Ф_н$

через гидрофобный барьер мембраны. В результате энергия окислительно-восстановительных реакций трансформируется в трансмембранную разность электрохимических потенциалов ионов водорода ($\Delta\bar{\mu}H^+$), которая затем используется для синтеза АТФ из АДФ и $Ф_н$ с помощью особого фермента — АТФ-синтетазы.

Если сам принцип сопряжения переноса электронов с синтезом АТФ, выдвинутый Митчелом [Mitchell, 1961, 1966], достаточно хорошо обоснован экспериментально [Скулачев, 1972; Clayton, Sistrom, 1978; Schäfer, Klingenberg, 1978; Lee et al., 1979; Рэкер, 1979; Skulachev, Hinkle, 1981], то механизмы сопряжения переноса электронов с трансмембранным переносом протонов, а также механизм использования АТФ-синтетазой энергии протонного градиента по существу неясны.

Рассмотрим вначале цепи электронного транспорта (ЦЭТ) митохондрий.

1.2. Цепь электронного транспорта во внутренней мембране митохондрий

Превращения энергии, происходящие в митохондриях, можно схематически представить в виде следующих трех стадий [Грин, Гольдбергер, 1968; Ленинджер, 1974; Рэкер, 1979; Уайт и др., 1981].

1. Образование доноров электронов для ЦЭТ (НАДН, сукцинат и др.).

2. Перенос электронов по ЦЭТ от НАДН и сукцината к кислороду, сопряженный с образованием трансмембранной разности электрохимических потенциалов ионов водорода ($\Delta\bar{\mu}H^+$).

3. Использование $\Delta\bar{\mu}H^+$ для синтеза АТФ из АДФ и $Ф_н$.

Все стадии, кроме первой, протекают во внутренней мембране митохондрий. Таким образом, основной энергетической функцией ЦЭТ митохондрий является использование энергии редокс-реакций для синтеза АТФ, причем образующаяся в процессе этих реакций $\Delta\bar{\mu}H^+$, необходимая для синтеза АТФ, может непосредственно использоваться для совершения химической и осмотической работы и других процессов [Скулачев, 1972; Skulachev, 1980, 1981].

Суммарная реакция окисления НАДН кислородом, осуществляемая митохондриями, есть реакция горения водорода, которая в митохондриях происходит в несколько этапов, причем на каждую молекулу НАДН, окисляемую дыхательной цепью в сопряженных условиях, образуется не менее трех молекул АТФ [Рэкер, 1979].

Скорость переноса электронов между переносчиками ЦЭТ митохондрий различна и в среднем увеличивается при приближении к акцепторной стороне, где происходит восстановление O_2.

В стационарных условиях электронный поток по ЦЭТ является достаточно быстрым, 10—100 электронов в секунду [Chance et al., 1980].

1.3. Переносчики цепи электронного транспорта митохондрий

Молекулы переносчиков представляют собой основные элементы структуры митохондрий, на которые приходится около 25% белка митохондриальных мембран [Ленинджер, 1966].

Известно около 20 переносчиков электронов, составляющих ЦЭТ митохондрий (табл. 1). Среди переносчиков только НАД, флавины и убихинон являются двухэлектронными, в то время как остальные компоненты ЦЭТ — одноэлектронные.

Большинство компонентов дыхательной цепи содержат атомы переходных металлов, претерпевающих редокс-превращения. Так, ряд белков содержит атомы железа, связанные с атомами кислотолабильиой серы [Palmer, 1975; Орм-Джонсон, 1978; Лихтенштейн, 1979]. Это так называемые железо-серные центры (иначе их называют белками, содержащими негем(ин)овое железо-, или железо-серосодержащими белками). Как правило, железо-серные центры являются одноэлектронными переносчиками, однако в определенных условиях они могут иметь несколько степеней окисления [Орм-Джонсон, 1978; Лихтенштейн, 1979].

Большую группу переносчиков электронов составляют цитохромы, которые содержат гемовую(железо-порфириновую) простетическую группу [Ленинджер, 1974; Рэкер, 1979]. Цитохромы подразделяются на три основных класса (*a*, *b, c)* согласно типу тема, а также их характерному спектру поглощения в вос-

Таблица 1. Потенциалы полувосстановления митохондриальных переносчиков*

Переносчик электронов	E° (pH7,2), B	pH зависимость мВ/ед pH	Переносчик электронов	E° (pH7,2), B	pH зависимость мВ/ед pH
НАД	-0,32	—	FeS центр (СДГ)	+0,03	
Флавопротеид	-0,30	—	Убихинон (KoQ)	+0,045	60
FeS центры 1*a*+1*b*	-0,305	—	Цитохром c_1.	+0,215	0
FeS центры 3+4	-0,245	—	Цитохром *c*	+0,235	0
FeS центр 2	-0,020	—	FeS центр «Риске»	+0,280	
Флавопротеид (СДГ)	-0,045	—	Цитохром *a*	+0,210	~20
Цитохром b_{566}	-0,03	0, pH >7; 60, pH <7	Cu	+0,245	0
Цитохром b_{562}	+0,03	60, pH 7	Цитохром a_3	+0,385	~0, pH >7; 60, pH <7

* Таблица составлена по данным работы Вилсона с соавторами [Wilson et al., 1974].

становленной форме [Dickerson, Timkovich, 1975; Харбури, Маркс, 1978; Bartsch, 1978].

Белковые компоненты переносчиков электронов необходимым образом модифицируют редокс-свойства металлов, а также обеспечивают им соответствующее диэлектрическое и химическое окружение [Лихтенштейн, 1979; Эйхгорн, 1978; Chance et al., 1980].

Подробное описание свойств индивидуальных переносчиков электронов можно найти в литературе [Ленинджер, 1974; Эйхгорн, 1978; Лихтенштейн, 1979; Adman, 1979].

На рис. 2 показана упрощенная схема расположения переносчиков электронов в дыхательной цепи. Первым субстратом ЦЭТ является НАДН, с которого электроны переходят на ФМН и далее через несколько железосерных центров переносятся на убихинон и цитохромы *b*. Затем через цепь цитохромов электроны переносятся на кислород.

Как правило, в ЦЭТ переносчики электронов расположены в последовательности, при которой их редокс-потенциалы возрастают от некоторого отрицательного значения, приблизительно соответствующего потенциалу водородного электрода, до значения, близкого к потенциалу, при котором происходит восстановление кислорода до воды.

Энергия электрона при переносе от НАДН к кислороду изменяется приблизительно на 1,1—1,2 эВ; эта разность и есть та движущая сила, которая в конечном итоге приводит к синтезу АТФ. В табл. 1 приведены редокс-потенциалы некоторых компонентов дыхательной цепи. Эти значения являются приближенными и варьируют при изменении pH, ионного состава среды, температуры и др. Кроме того, редокс-потенциалы переносчиков, в силу их белкового характера, естественно зависят от источника и способа выделения митохондрий и их фрагментов. Поскольку переносчики электронов расположены асимметрично в мембране [Рэкер, 1979], их редокс-потенциалы зависят также от величины трансмембранного и поверхностного электрических потенциалов [Hinke, Mitchell, 1970; Waltz, 1979; Itoh, 1980].

1.4. Комплексы переносчиков — основные структурные единицы ЦЭТ

Большинство переносчиков ЦЭТ митохондрий организовано в мультиферментные комплексы определенного состава, в которых задана последовательность переноса электронов между переносчиками [Hatefi et al., 1962; Hatefi, Galante, 1978; Грин, Флейшер, 1964; Ленинджер, 1966; Грин, Гольдбергер, 1968]. При обработке внутренних мембран детергентами полная электронтранспортная цепь может быть разделена на четыре мультиферментных комплекса, обозначаемых римскими цифрами: I. НАДН: убихинон-оксидоредуктаза; II. сукцинат: убихинон-оксидоредуктаза; III. уби-

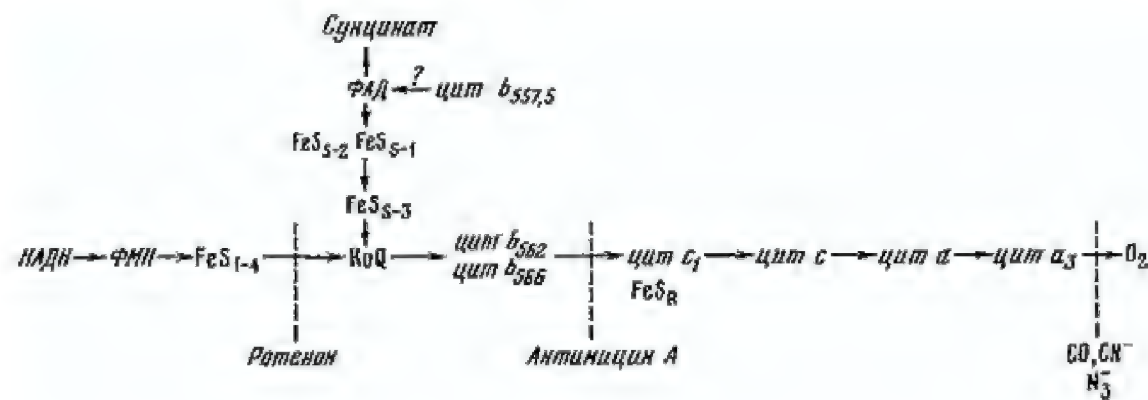


Рис. 2. Упрощенная схема последовательности переноса электронов в дыхательной цепи митохондрий

Таблица 2. Свойства комплексов цепи переноса электронов митохондрии

Комплекс	Относи-тельное содержан ие	Молеку лярный вес, кД	Количество полипепти-дов	Компонент	Содержа-ние компонен-тов, моль	Специфи-ческие ингибиторы
I. НАД Н:KoQ-оксидоредуктаза	1	<700	16—18	ФМН	1	Ротенон, амитал, пирицидин
				Негемовое железо	16—18	
				Убихинон, липиды	4	
II. Сукцинат : KoQ-оксидоредуктаза	2	200	4	ФАД	1	α-Теноил-трифторацето н
				Негемовое железо	7—8	
				Цитохром *b*	1	
				Липиды		
III. $KoQH_2$: цитохром с-оксидоредуктаза	3	250	8—9	Цитохром *b*	2	Антимицин А
				Цитохром c_1	1	
				Негемовое железо	2	
				Убихинон	≥1	
				Липиды		
IУ. Цитохром с: 0_2-оксидоредуктаза	7	150—200	7	Цитохром *a*	1	Цианид, азид, CO
				Цитохром a_3	1	
				Медь	2	
				Липиды		

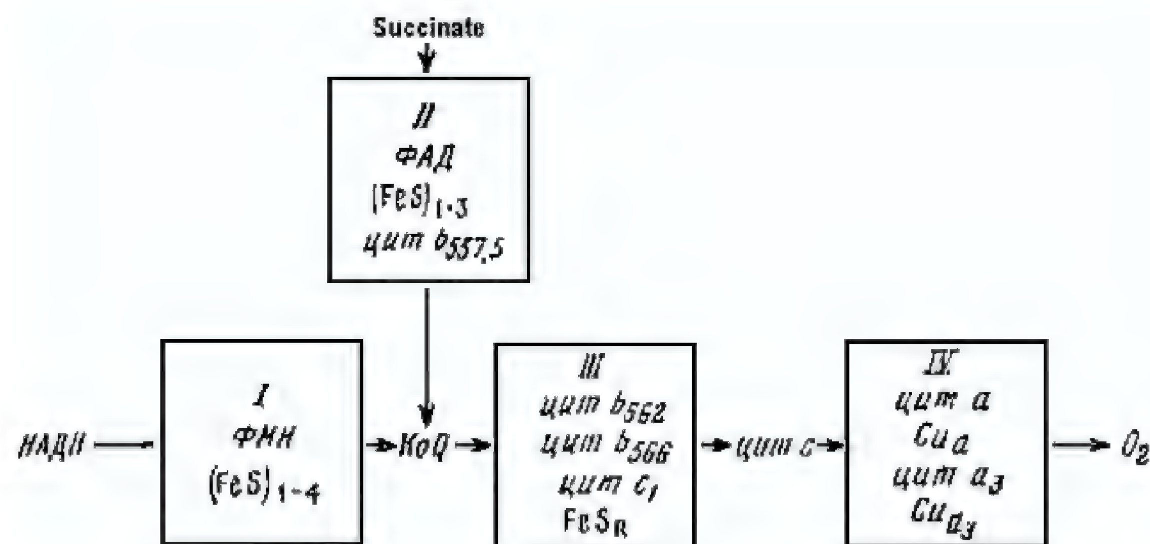


Рис. 3. Мультиферментные комплексы, составляющие дыхательную цепь митохондрий

хинол: феррицитохром с-оксидоредуктаза; IV. цитохром с: кислород-оксидоредуктаза.

Некоторые их свойства приведены в табл. 2, составленной по данным работы [Hatefi, Galante, 1978]. Из указанных комплексов путем реконструкции (где необходимо — в присутствии цитохрома *с*) можно получить полную электронтранспортную систему или ее отдельные сегменты [Hatefi et al., 1962; Грин, Флейшер, 1964; Hatefi, Galante, 1978]. Расположение этих комплексов в дыхательной цепи показано на рис. 3. Каждый комплекс состоит, как правило, не менее чем из пяти субъединиц. Часть из них несет на себе кофакторы, между которыми возможен перенос электронов. Важно отметить, что комплексы входят в ЦЭТ в различных соотношениях [Грин, Гольдбергер, 1968; Hatefi, Galante, 1978].

Электроны между комплексами переносятся с помощью подвижных переносчиков — убихинона и цитохрома *с*. Двигаясь диффузно через липидный слой мембраны, убихинон связывает между собой комплексы I и III, а также II и III [Грин, Флейшер, 1964; Грин, Гольдбергер, 1968; Kroger, Klingenberg, 1973; Gutman, 1980]. Цитохром *с* выполняет аналогичную челночную функцию на участке между комплексами III и IV, диффундируя вдоль поверхности мембраны [Грин, Гольдбергер, 1968; Chance et al., 1980]. Возможен также непосредственный перенос электронов от одного комплекса к другому [Ragan, Heron, 1978; Heron et al., 1978; Trumpower, 1981a].

Три комплекса — I, III и IV — играют роль генераторов $\Delta\bar{\mu}H^+$, сопрягающих перенос электронов с трансмембранным переносом протонов. Была показана способность этих комплексов генерировать трансмембранную разность электрохимических потенциалов ионов водорода при встраивании их в липосомы из фосфолипидов [Hinkle et al., 1972; Ragan, Hinkle, 1975; Kagawa, 1980; Рэкер, 1979].

Таблица 3. Свойства железосерных центров дыхательной цепи митохондрий

Комплекс	Центр	Тип * кластера	Среднеточечный (pH 7) ** редокс-потенциал, мВ	pH *** зависимость, мВ/ед pH	
I	N 1*а*	2Fe— 2S	-370	60	
	N 1*в*	2Fe— 2S	-245	0	
	N 2	2Fe— 2S	-20	60	
	N 3	4Fe— 4S	-245	0	
	N 4	4Fe— 4S	-245	0	
II	S1	2Fe— 2S	0	0	
	S2	2Fe— 2S	-260	0	
	S3	4Fe— 4S	+60	0	
III	«Риске»	2Fe— 2S	+280	0, pH<8	60, pH>8

* Тип кластера приведен по работе Альбрехта и Субраманиана [Albracht, Subramanian, 1977].

** Величины среднеточечных редокс-потенциалов центров N1 — N 4 приведены по следующим работам: [Ingledew, Ohnishi, 1980], центров S1, S2 — [Ohnishi et al., 1976b], центра S3 — [Ohnishi et al., 1976a], Риске—[Prince, Dutton, 1976].

*** pH-Зависимость редокс-потенциала железосерного белка Риске определена в работе [Prince, Dutton, 1976], а остальных центров — [Ingledew, Ohnishi, 1980].

Таким образом, эти комплексы не только осуществляют перенос электронов, но и являются функциональной единицей сопряжения переноса электронов с образованием АТФ. Поэтому расположение внутримембранных белков, составляющих комплекс, определяется, помимо всего прочего, необходимостью векторного переноса электронов (протонов).

Рассмотрим более подробно характеристики каждого из этих комплексов.

Комплекс I (НАДН: убихинон-оксидоредуктаза) состоит (табл. 2) из большого числа компонентов [обзор см.: Ragan, 1976; Hatefi, Galante, 1978; Рэкер, 1979; Gutman, 1980; Ragan et al., 1981]. Он катализирует перенос электронов от НАДН к убихинону, причем эта реакция специфически ингибируется ротеноном, пирицидином и др. [Ragan, 1976; Gutman, 1980]. Восстановление убихинона комплексом I требует присутствия липидов [Рэкер, 1979]. Комплекс I содержит ФМН, а также несколько железосерных центров. Основные сведения о железосерных центрах получены с помощью метода ЭПР при низких температурах (табл. 3). Имеется некоторая неопределенность относительно числа и стехиометрии ЭПР-регистрируемых центров. Центр N1 состоит из двух компонентов N1а и N1в, которые имеют сходный сигнал ЭПР, но различные редокс-потенциалы [Ohnishi, 1975]. Наиболее высокопотенциальный центр N2, по-видимому, непосредственно взаимодействует с хиноном (см. рис.2).

В литературе имеются указания на то, что редокс-потенциа-

лы некоторых центров изменяются при добавлении АТФ [Gutman et al., 1972; Ohnishi, 1975; Ingledew, Ohnishi, 1980].

Встроенный в липосому комплекс функционирует как редокс-зависимая протонная помпа [Ragan, Hinkle, 1975; Ragan, 1976] и в присутствии АТФ-синтетазного комплекса осуществляет синтез АТФ, сопряженный с окислением НАДН с помощью KoQ_1.

Следует отметить полную неясность механизма трансформации энергии в комплексе I, особенно с учетом определенного в последнее время соотношения $H^+/2ё$, равного 3—4 [Lehninger et al., 1979; Coin, Hinkle, 1979; Hinkle, 1981].

Для объяснения механизма сопряжения двухэлектронных ФМН и KoQ с одноэлектронными железосерными центрами и высокого значения $H^+/2e$ была предложена гипотеза [Hinkle, 1981] о том, что электроны в комплексе I переносятся циклически, так же, как в Q-цикле Митчела (см. описание комплекса III).

Комплекс II (сукцинат: убихинон—оксидоредуктаза), катализирующий окисление сукцината убихиноном, состоит из четырех полипептидов (табл. 2) [Capaldi et al., 1977; Hatefi, Galante, 1978]. Два из них (70 и 27 кД) представляют собой сукцинат-дегидрогеназу. Большая субъединица содержит ФАД, ковалентно связанный с белком, и 4 атома железа и кислотолабильной серы, которые образуют два железосерных центра [Ohnishi et al., 1976b]. Меньшая субъединица сукцинатдегидрогеназы представляет собой железо-серосодержащий белок [Ohnishi et al., 1976a]. Следовательно, сукцинатдегидрогеназа содержит три железо-серных центра (табл. 3): два железосерных центра типа 2Fe—2S в большой субъединице и один центр типа 4Fe—4S в малой [Capaldi et al., 1977; Ohnishi et al., 1976b; Hatefi, Galante, 1978]. Два других полипептида ~13—15 кД или один из них принадлежат низкопотенциальному цитохрому $b_{557,5}$ [Hatefi, Galante, 1978]. Функция его не совсем ясна.

Использование антител к отдельным полипептидам, а также неспецифического непроникающего реагента, ^{35}S-диазобензосульфоната, позволило установить, что комплекс II пересекает внутреннюю мембрану митохондрий, причем полипептид, содержащий флавопротеид, обращен к матриксной, а субъединица ~15 кД — к цитоплазматической стороне [Merli et al., 1979].

Как показано для митохондрий *Neurospora crassa*, все субъединнцы комплекса II синтезируются в цитоплазме Weiss et al., 1979].

Недавно изолирован митохондриальный белок (QP—S) с молекулярным весом ~15 кД, который восстанавливает сукцинат-убихинон-редуктазную активность у частично очищенной сукцинатдегидрогеназы. Предполагается, что этот белок является специфическим убихинонсвязывающим белком, необходимым для связи сукцинатдегидрогеназы с цитохромами *b* и c_1 комплекса III [Yu, Yu, 1981]. Этот белок, по-видимому, идентичен одному из низкомолекулярных компонентов комплекса II. В этой

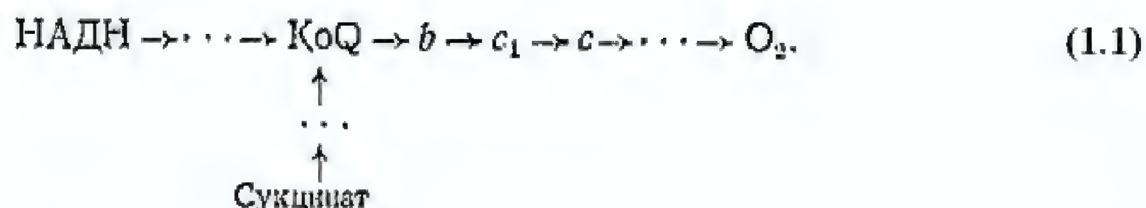
связи уместно отметить, что по крайней мере два термодинамически стабильных семихинона обнаружены в комплексе II [Ruzichka et al., 1975; Salerno et al., 1977; Gutman, 1980; Trumpower, 1981; Yu, Yu, 1981]. Анализ ЭПР спектров в ориентированных мультислоях, полученных из митохондрий, позволил установить, что кольца хинонов перпендикулярны плоскости мембраны [Salerno et al., 1977]. Оценка расстояния между семихинонами дает величину ≈8 Å [Ruzichka et al., 1975].

Комплекс III (убихинол: цитохром c-оксидоредуктаза) катализирует перенос электронов от восстановленного убихинона (убихинола) к цитохрому *c*. Этот комплекс (табл. 2) состоит из 7—9 полипептидов [Rieske, 1976; Marres, Slater, 1977; Hatefi, Galante, 1978; Bell, Capaldi, 1976; Bell et al., 1979; Bill et al., 1982], содержит цитохромы *b* и c_1 в соотношении 2:1, железосерный белок Риске (FeS_R) и убихинон [Rieske, 1976]. Цитохромы *b* представлены двумя формами, отличающимися спектрами поглощения, сигналами ЭПР и редокс-потенциалами [Wikstrom, 1973]; цитохром b_{566} (b_T или b_L — низкопотенциальный) и цитохром b_{562} (b_k - или b_H - высокопотенциальный).

Данные экспериментов по химической модификации мембран митохондрий и СМЧ с помощью непроникающего реагента ^{35}S-диазобензосульфоната [Bell et al., 1979] и сшивающих агентов [Smith et al., 1978] приводят к выводу о трансмембранном расположении комплекса III во внутренней мембране митохондрий. Этот вывод подтверждается также данными электронной микроскопии мембранных кристаллов комплекса III у *Neurospora crassa* [Weiss et al., 1979; Kevin et al., 1981], согласно которым большая часть комплекса расположена вне мембраны. На рис. 4 показано предполагаемое расположение комплекса III в мембране митохондрий.

Комплекс III занимает центральное место в энергетическом обмене не только в ЦЭТ митохондрий, но и у хлоропластов, хроматофоров, а также у некоторых бактерий. В связи с этим рассмотрим более детально редокс-превращения компонентов комплекса III,

Долгое время считали, что последовательность переноса электронов в дыхательной цепи и в частности в комплексе III, является линейной [Chance, Williams, 1956; Ленинджер, 1966,



Эта схема хорошо согласуется с наблюдением, что ингибирование электронного переноса в митохондриях антимицином увеличивает восстановленность убихинона и цитохромов *b* и уменьшает восстановленность цитохромов *c* и c_1 [Chance, Williams, 1956].

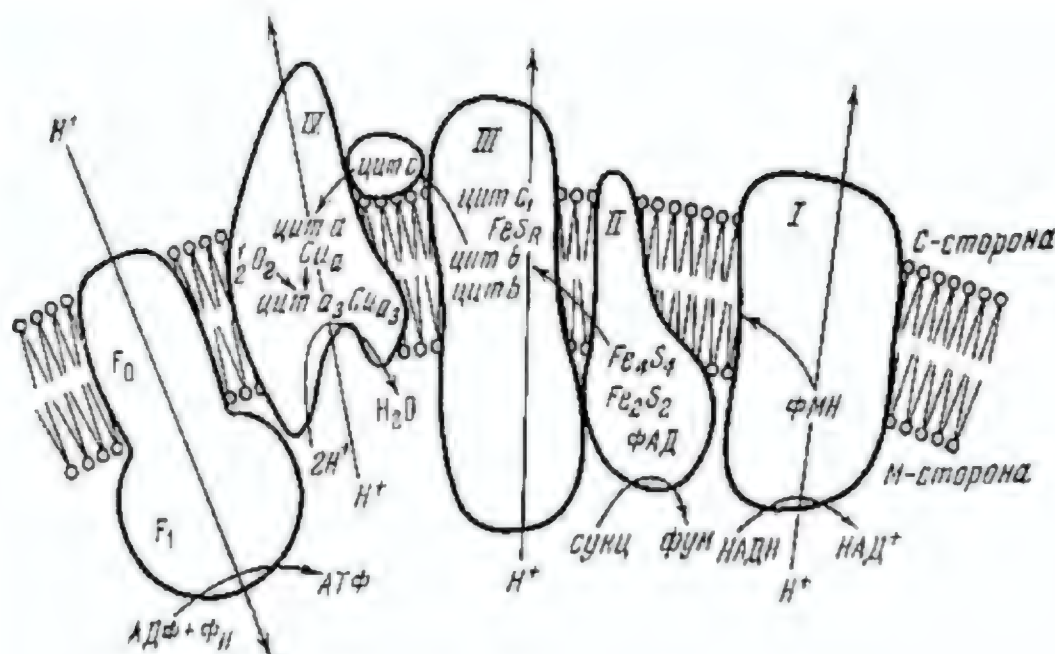


Рис. 4. Предполагаемая организация электронтранспортных комплексов *I—IV* и АТФазы во внутренней мембране митохондрий
Перенос электронов между комплексами *I* и *III*, *II* и *III* осуществляется через убихинон (не показан), либо непосредственно, перенос электронов между комплексом *III* и *IV* *с* помощью цитохрома *с*. Размеры и приблизительная форма комплекса *IV* даны по работе Фуллера и др [Fuller et al., 1979], комплексов *II* и *III* — по работе Вейса и др. [Weiss et al., 1979]. *С* и *М* — соответственно цитоплазматическая и матриксная стороны мембраны митохондрий

Вместе с тем чрезвычайно сложный характер редокс-превращений цитохромов *b* в митохондриях (см. с. 16) приводит к необходимости отказа от указанной линейной схемы или ее существенной модификации. Одним из наиболее удивительных особенностей кинетического поведения цитохромов *b* является эффект «сверхвосстановления» цитохромов *b* под действием окислителей. Суть этого эффекта состоит в том, что в присутствии сукцината и антимицина А добавление кислорода [Rieske, 1971; Wikstrom, Berden, 1972] или феррицианида [Rieske, 1971] приводит к восстановлению цитохромов *b,* в то время как, согласно линейной схеме (1.1), должно наблюдаться их окисление. Некоторые другие эксперименты, непосредственно не укладывающиеся в традиционную линейную схему переноса электронов, описаны ниже. Эффект «сверхвосстановления» цитохромов *b* был объяснен Викстремом и Верденом [Wikstrom, Berden, 1972] исходя из схемы, предполагающей ступенчатое окисление убихинона. Рассматриваемая ниже схема (1.2) несколько отличается от исходной схемы Викстрема и Вердена. В ней восстановление цитохромов *b* осуществляется парой $Q^{\bullet}H/Q$ ($Q^{\bullet}/Q$), а не $QH_2/Q^{\bullet}H$ [Mitchell, 1976, Trumpower, 1976], как это предполагалось вначале и, кроме того, введен железосерный белок Риске, необходимый, как показано в работах [Trumpower, 1976, 1981b], для восстановления цитохрома c_1 (см. ниже).

Некоторые факты относительно кинетики редокс-реакций комплекса III

1. Добавление антимицина А к митохондриям в присутствии кислорода приводит к восстановлению цитохромов *b* и убихинона и к окислению цитохрома *c* [Potter, Reif, 1952; Chance, Williams, 1956].

2. Кинетика восстановления цитохромов *b* сукцинатом трехфазна: быстрое частичное восстановление сменяется окислением с последующим более медленным восстановлением [Yu and Yu, 1981; Zhen et al., 1981].

3. «Сверхвосстановление» цитохромов *b* в присутствии антимицина А и сукцината, вызванное добавлением окислителей (феррицианида или кислорода) [Rieske, 1971; Wikstrom, Berden, 1972; Wilson et al., 1972; Eisenbach, Gutman, 1975; Trumpower, Katki, 1975].

4. Добавление кислорода к митохондриям, в которых цитохромы *b* полностью восстановлены, вызывает окисление последних, чувствительное к антимицину [Erecinska et al., 1973].

5. Удаление железосерного белка Риске (Ре5к) из сукцинат: цитохром c-оксидоредуктазы не нарушает сукцинат-убихинон-редуктазную активность [Trumpower et al., 1980], но приводит к:

а) ингибированию быстрого восстановления цитохрома c_1 сукцинатом как в присутствии, так и в отсутствие антимицина [Trumpower, 1976];

б) ингибированию в присутствии антимицина быстрого восстановления цитохромов *b* сукцинатом (в отсутствие антимицина ингибирования нет) [Trumpower, 1976];

в) блокированию индуцированного окислителями сверхвосстановления цитохромов *b* [Bower et al.,., 1981].

6. Индуцированное окислителями восстановление цитохромов *b* в присутствии антимицина А ингибируется (ср. с пунктом 5, в);

а) британским антилюизитом (2,3-меркапто-пропанолом) [Ксезенко, Константинов, 1980];

б) аналогом убихинона УГДБТ (5-*n*-ундецил-6-гидрокси-4,7-диоксобензотиазол) [Bower, Trumpower, 1980; Bower et al., 1981].

7. Быстрое восстановление цитохромов *b* сукцинатом ингибируется при совместном действии антимицина и (ср. с пунктом 5, 6) британского антилюизита [Deul, Thorn, 1962; Ксезенко, Константинов, 1980], ингибирующего перенос электронов на уровне железосерного белка Риске [Slater, deVries, 1980; Slater, 1981].

8. Замедление в присутствии антимицина восстановления цитохромов *b* сукцинатом или убихиноном в условиях, когда цитохром c_1 (и FeS_R) восстановлен (эффект динамического контроля) [Eisenbach, Gutman, 1975; Trumpower, Katki, 1975].

9. Энергозависимое восстановление цитохромов *b* при добавлении АТФ в митохондриях и СМЧ [Dutton, Wilson, 1974; Каменский и др., 1975; Konstantinov et al., 1981].

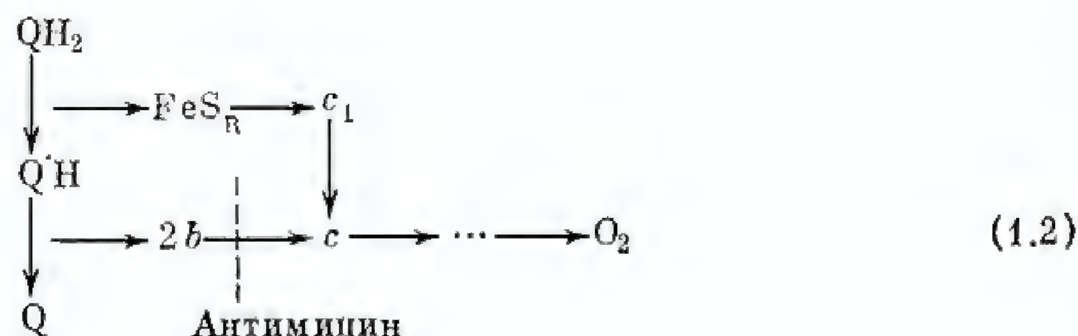
10. Антимицин А не ингибирует быстрого восстановления цитохрома c_1 сукцинатом в полностью окисленном сукцинат: цитохром c-оксидоредуктазном комплексе [Bower, Trumpower, 1981].

Эта схема [подробнее см.: Ксезенко, Константинов, 1980; Konstantinov et al., 1981] близка к очень популярному в настоящее время так называемому Q-циклу (см. далее). Однако в отличие от последнего схема (1.2) существенно проще.

Действительно, восстановление цитохромов *b* и окисление цитохромов *c* и c_1, наблюдаемое в митохондриях [Ленинджер, 1966; Chance, Williams, 1956] при добавлении антимицина, обусловлено согласно схеме (1.2) блокированием переноса электронов между цитохромами *b* и *c*. Восстановление цитохромов *b,* в свою очередь, тормозит реакцию восстановления железосерного

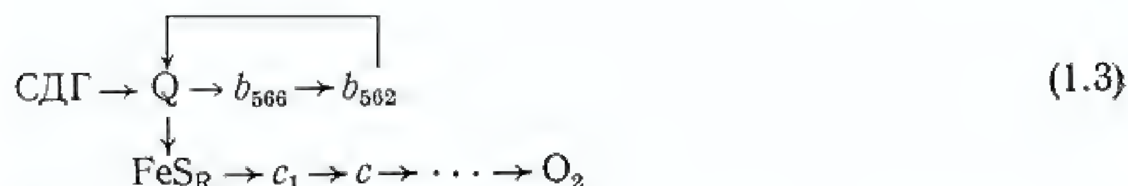
белка Риске, что в конечном итоге приводит к окислению цитохромов c и c_1.

Столь же естественно объясняется эффект сверхвосстановления цитохромов b. В присутствии антимицина А добавление окислителя вызывает окисление железосерного центра Риске, что обусловливает образование $Q^{\bullet}$, который и восстанавливает цитохромы b. Эффект динамического контроля (смотри пункт 8



Восстановление железо-серного центра Риске должно привести к замедлению восстановления цитохромов b, поскольку в этом случае не может образоваться восстановитель $Q^{\bullet}$ ($Q^{\bullet}H$). Вмес-те с тем схема (1.2) не объясняет того факта, что ингибиторы железосерного белка Риске приводят, подобно антимицину, к окислению цитохромов c_1 c и восстановлению цитохромов b [Ксезенко, Константинов, 1980; Konstantinov et al., 1981].

Для объяснения сложного поведения цитохромов b в комплексе III Митчелом [Mitchell, 1975, 1976] была предложена схема так называемого «Q-цикла» (рис. 5), во многом сходная со



Наиболее существенные черты ее следующие.

1. В отличие от линейной схемы и схемы 1.2 цитохромы b и $c(c_1)$ взаимодействуют друг с другом через убихинон. Отметим, что независимо от Митчела такое предположение было сделано в работе Либермана с сотр. [Либерман и др., 1976].

2. Как и в схеме 1.2, предполагается, что убихинон окисляется в двух последовательных одноэлектронных реакциях.

3. Убихинон не только восстанавливает цитохромы b, но и окисляет их. Эти две реакции осуществляются в так называемых центрах i и o, локализованных, по-видимому, на противоположных сторонах мембраны.

4. В центре o убихинол окисляется до убихинона с освобождением двух протонов, причем первый электрон поступает к железосерному белку Риске и затем к цитохрому $c(c_1)$, а второй поступает к цитохрому b_{566}.

5. Цитохром b_{566}, в свою очередь, восстанавливает цитохром b_{562}.

6. Цитохром b_{562} восстанавливает убихинон в центре i.

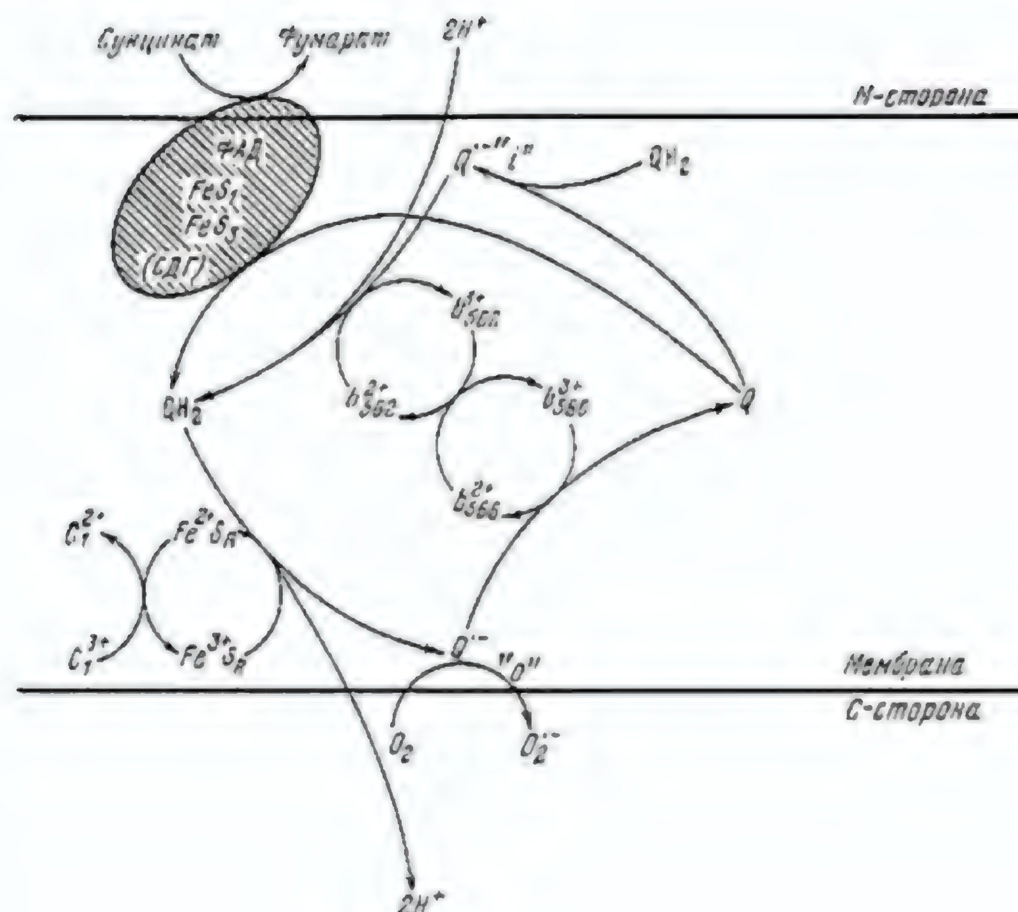


Рис. 5. Схема Q-цикла Митчела

Согласно схеме (1.3) цитохром b_{562} окисляется семихиноном (либо хиноном) в центре *i* в антимицин-чувствительной реакции (рис. 5). Интересно, что методом ЭПР действительно был обнаружен антимицин-чувствительный семихинон [Konstantinov, Ruuge, 1977; Ohnishi, Trumpower, 1980; DeVries et al., 1980]. Концентрация этого семихинона сопоставима с концентрацией комплекса III [DeVries et al., 1980], поэтому предполагают, что он связан с белком [Yu, Yu, 1981].

Отметим, что схема Q-цикла не объясняет того факта, что добавление кислорода к митохондриям, у которых цитохромы *b* полностью восстановлены, вызывает их окисление, чувствительное к антимицину (см. эксперимент 4 на с. 16). Согласно схеме Q-цикла (рис. 5) окисление цитохрома c_1 должно приводить к образованию семихинона, который восстанавливает цитохромы *b*.

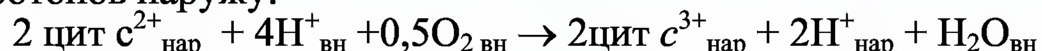
Таким образом, в настоящее время неизвестен механизм функционирования комплекса III митохондрий. В описанном выше Q-цикле и в его различных вариантах [Mitchell, 1976; Trumpower, 1976, 1981; Slater, 1981; Konstantinov et al., 1981; Bowyer, Trumpower, 1981b; Gutman, 1980] наиболее доказанным, на наш взгляд, является участие железосерного белка Риске в восстановлении цитохромов *b*.

Однако семихинон, соответствующий центру «о», пока не обнаружен. Неясно также, как образуется семихинон в центре *i*. На приведенной на рис. 5 схеме предполагается, что он образуется в реакции диспропорционирования Q и QH_2.

Основные эксперименты по кинетике редокс-превращений цитохромов *b* в комплексе III выполнены в присутствии ингибиторов, механизм действия которых до конца неясен. Данные такого рода следует интерпретировать с осторожностью. Известно, например, что антимицин вызывает длинноволновый сдвиг максимума поглощения цитохрома b_{562} [Berden, Opperdoes, 1972; Brandon et al., 1972; Dutton et al., 1972], стимулирует образование H_2O_2 и супероксид-анион-радикала кислорода [Boveris, Chance, 1973; Erecinska, Wilson, 1976], модифицирует редокс-зависимое связывание протонов цитохромами *b* [Artzatbanov, Konstantinov, 1980], а также перенос электронов между цитохромами *b* и убихиноном (см. обзор: Slater, 1973; Erecinska, Wilson, 1976]. Наиболее надежными, с нашей точки зрения, являются эксперименты по выяснению временной последовательности переноса электронов. Поэтому представляется весьма плодотворной попытка реконструкции комплекса III с фотосинтетическим реакционным центром пурпурных бактерий [Packhman et al., 1980; Matsuura, Dutton, 1981], поскольку в данном случае можно практически мгновенно перенести определенное (1, 2, ...) число электронов в комплекс III.

Рассмотрим теперь терминальный электронтранспортный комплекс дыхательной цепи.

Комплекс IV (цитохром *c* оксидаза) является терминальным компонентом дыхательной цепи и осуществляет перенос электронов от цитохрома *c* к кислороду, сопряженный с переносом протонов наружу:



$$2\ \text{цит}\ c^{2+}_{\text{нар}} + 4H^+_{\text{вн}} + 0{,}5O_{2\ \text{вн}} \rightarrow 2\text{цит}\ c^{3+}_{\text{нар}} + 2H^+_{\text{нар}} + H_2O_{\text{вн}}$$

Мономерная форма цитохромоксидазы, выделенная из митохондрий, представляет собой липопротеиновый комплекс (табл. 2), который содержит 4 редокс-компонента, цитохромы *a* и a_3 и два атома меди [см. обзор Malström, 1973, 1979; Уортон, 1978; Кулиш, Миронов, 1979; Wikstrom, Krab, 1979; Chance, 1979, 1981; Azzi, 1980; Wikström et al., 1981; Wainio, 1983]. Компонент, взаимодействующий с O_2 или с CO, называется цитохромом a_3 а не взаимодействующий с ними — цитохромом *a* (Keilin, 1966). Используя различные методы, удается выделить, как правило, семь [King et al., 1979; Wikström et al., 1981] или более [Buse et al., 1978; Kadenbach, Merle, 1981; Wikström et al., 1981] полипептидов, составляющих цитохромоксидазу. Сводки различных выделений цитохромоксидазы содержатся в ряде работ [King et al., 1979; Kadenbach, Merle, 1981; Wikström et al., 1981]. Так как гемы *a* и медь теряются при выделении субъединиц, то неясно, с какими субъединицами они связаны. Имеются убедительные данные [Kadenbach, Merle, 1981] о том, что два атома меди и

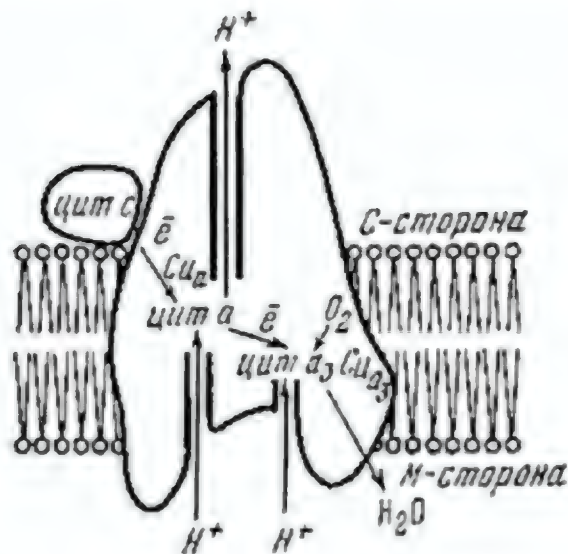


Рис. 6. Цитохромоксидаза как редокс-зависимая протонная помпа [Константинов, 1977]

два гема *a* находятся в двух больших субъединицах. В этой связи уместно заметить, что у прокариот цитохромоксидаза содержит только две субъединицы, сходные с двумя большими субъединицами эукариот [Ludwig, 1980; Sone, 1981; Kadenbach, Merle, 1981; Wikström et al., 1981].

Недавно были обнаружены три интересных и необычных аспекта функционирования цитохромоксидазы.

1. Эксперименты с интактными митохондриями, СМЧ и цитохромоксидазой, встроенной в липосомы из фосфолипидов, позволили предположить, что цитохромоксидаза является протонной помпой, функция которой заключается не только в поглощении протонов, необходимых для восстановления кислорода до воды, но и в переносе протонов из внутренней фазы наружу [Константинов, 1977; Wikström, Krab, 1979; Krab, Wikström, 1979; Wikström, 1981; Wikström et al., 1981]. Неясно пока, каким образом происходит транспорт протонов против поля. Предполагается, что наиболее гидрофобная третья субъединица цитохромоксидазы формирует редокс-зависимый протонный канал [Azzi et al., 1979; Wikström, 1981; Wikström et al., 1981]. В пользу этого говорит факт подавления функции цитохромоксидазы как протонной помпы в присутствии ДЦКД, который избирательно связывается с третьей субъединицей [Azzi et al., 1979; Azzi, 1980; Casey et al., 1980]. Однако обнаружено [Prochaska et al., 1981] связывание ДЦКД и с другими субъединицами. Об этом же свидетельствует отсутствие переноса протонов через мембрану, если встроенная в липосомы цито-хромоксидаза лишена третьей субъединицы [Coin, Hinkle, 1979; Saraste et al., 1981; Wikström, 1981]. Важную роль в транслокации протона, по-видимому, играют редокс-превращения гема *a* [Константинов, 1977; Artzatbanov et al., 1978; Wikström, 1981], на что указывает чувствительность этого цитохрома к протонам матрикса и зависимость его редокс-потенциала от наличия третьей субъединицы (рис. 6).

2. Неожиданным оказалось сходство по аминокислотному составу субъединицы II цитохромоксидазы с медьсодержащими белками типа пластоцианина, субъединицы V с гемоглобином и одной из субъединиц VII — с цитохромом c_{555} *Chlorobium limicola* [Buse et al., 1978; Steffens, Buse, 1979; Azzi, 1980].

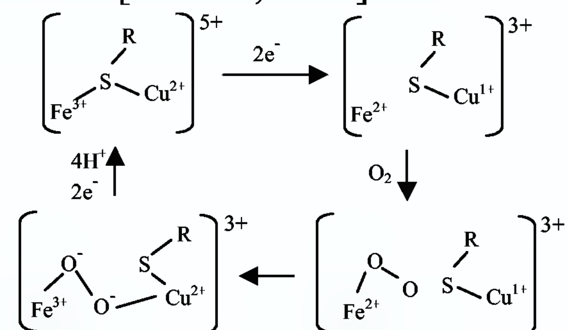
3. Обнаружено также, что изменение редокс-состояния одного из гемов влияет на редокс-потенциал второго [Malström, 1973; Nicolson, Peterson, 1974; Wikström et al.,1976; Babcock et al., 1978;

Wikström et al., 1981]. Молекулярная основа такого рода взаимодействия неясна.

Использование ЭПР и других методов позволило оценить расстояние между различными редокс-центрами, а также расположение комплекса IV в мембране [см. обзор: Wikström et al., 1981]. Как и другие комплексы, он расположен трансмембранно, причем, как и в комплексе III, большая часть его находится вне мембраны (см. рис. 4 и 6).

Расстояние между гемом *a* и Cu_a, по данным рентгеноструктурного анализа (EXAFS), составляет более 5 Å, а расстояние между гемом a_3 и Cu_{a3}—3,75 Å [Powers et al., 1981]. Предполагают [Chance, 1981; Powers et al., 1981], что реакционный центр цитохромоксидазы представляет собой железомедный биядерный комплекс ($Fe_{a3}Cu_{a3}$).

Последовательность переходов его из одного состояния в другое при восстановлении кислорода может быть представлена в виде следующей схемы [Chance, 1981]:



Перейдем к анализу фотосинтетического переноса электронов.

1.5. ЦЭТ фотосинтезирующих бактерий

В этом параграфе кратко рассмотрен транспорт электронов у фотосинтезирующих бактерий, общая характеристика которых приведена ниже (см. [Gromet-Elhanan, 1977], а также [Кондратьева, Горленко, 1978]).

Характеристика	Зеленые серные бактерии Chlorobiaceae	Пурпурные бактерии серные Chromatiaceae	Пурпурные бактерии несерные Rhodospirillaceae
Типичные роды	Chlorobium Chloropseudomonas	Chromatium Thiospirillum	Rhodospirillum Rhodopseudomonas
Пигменты	Бактериохлорофиллы *c* или *a* Моноциклические каротиноиды	Бактериохлорофиллы *a* или *b* Ациклические каротиноиды	
Используемые доноры электронов	H_2S, S, $S_2O_3^{2-}$ или H_2	H_2S, S, $S_2O_3^{2-}$, H_2 и органические соединения	Органические соединения (у некоторых видов H_2)
Отношение к кислороду	Облигатные анаэробы	Облигатные анаэробы	Многие виды являются факультативными аэробами
Рост в темноте	Отсутствует	Отсутствует	Происходит в присутствии кислорода

Некоторые представители фотосинтезирующих бактерий (в основном принадлежащие *Rhodospirillaceae*) способны не только к фотосинтезу, но и к дыханию, причем ЦЭТ в ряде случаев, по набору переносчиков электронов [Baccarini-Melandri, Zannoni, 1978; Родова, 1980], их ориентации в мембране [Prince et al., 1975; Takemoto, Beckman, 1979], чувствительности транспорта электронов к ингибиторам [Dutton, Prince, 1978; Bowyer et al., 1980; Bowyer, Crofts, 1981], способности к образованию $\Delta\overline{\mu}H^{+}$ [Либерман, Цофина, 1969; Liberman, Skulachev, 1970; Скулачев, 1972; Остроумов и др., 1979; Самуилов, 1982] очень напоминает таковую у митохондрий.

Локализация некоторых ферментов во внутренней мембране митохондрий и в мембранах фотосинтезирующих бактерий

Фермент	Местоположение*		Литературный источник **
	митохондрии	хроматофоры	
F_1-АТФаза	M	M	Reed et al., 1975; Takemoto, Beckman, 1979
НАДН-дегидрогеназа	M	M	Collins et al., 1980; Takemoto, Beckman, 1979
Сукцинатдегидрогеназа	M	M	Takemoto, Beckman, 1979
Цитохром *c* (c_2)	C	C	Prince et al., 1975

* Сторона мембраны, обращенная внутрь митохондрий или клетки бактерий, обозначена М, а обращенная наружу — С.

** Ссылки приведены только для фотосинтезирующих бактерий. Обзор доказательств указанной локализации ферментов у митохондрий содержится в ряде работ [Harmon et al., 1974; Рэкер, 1979; Gazotti, 1980].

Общее представление о фотосинтезе

Фотосинтез осуществляют высшие растения, водоросли и некоторые бактерии [см. обзор Баславская, 1974; Рубин, Гавриленко, 1977; Тарчевский, 1977; Clayton, Sistrom, 1978; Clayton, 1980; Hatch, Boardman, 1981]. Основной смысл фотосинтеза заключается в трансформации поглощенной световой энергии в химическую энергию органических молекул.

Суммарное уравнение фотосинтеза для организмов, ассимилирующих углекислый газ, можно записать схематически следующим образом:



$$2ДН_2 + CO_2 \xrightarrow{свет} (CH_2O) + 2Д + H_2O,$$

где $ДН_2$— донор водорода (электрона). Для большинства растений и водорослей (в том числе синезеленых) донором электронов является вода. Поэтому в процессе фотосинтеза, включающего две последовательные фотохимические реакции, выделяется кислород. При бактериальном фотосинтезе донор электронов отличен от воды ([Кондратьева, 1972] см. также с. 21). Процесс бактериального фотосинтеза включает только одну фотохимическую реакцию [Parson, Cogdell, 1975].

Превращение энергии в первичных процессах бактериального фотосинтеза (а также фотосинтеза растений и водорослей) можно кратко суммировать в виде следующей последовательности событий.

1. Поглощение света молекулами хлорофилла и вспомогательных пигментов и миграция поглощенной энергии (10^{-14}— 10^{-11} с) к ФРЦ, где происходит первичное разделение зарядов (10^{-12}—10^{-11} с) (Borisov, Godik, 1973; Борисов, Годик 1975; Kaufmann et al., 1975; Rockley et al., 1975; Rubin, 1978; Рубин, 1980; Шувалов, Красновский, 1981].

2. Перенос электронов (10^{-9}—10^{-1} с) по градиенту редокс-потенциалов, созданному первичным разделением зарядов, сопряженный с образованием трансмембранной разности электрохимических потенциалов ионов водорода ($\Delta\bar{\mu}H^+$) (10^{-5}—10^{-1} с) [Jackson, Dutton, 1973; Drachev et al., 1976; Petty, Dutton, 1976a, b; Dutton, Prince, 1978; Prince, Dutton, 1978; Petty et al., 1979, Drachev et al., 1981; Baccarini-Melandri et al., 1981; Либерман, Цофина, 1969; Скулачев, 1972; Самуилов, 1982].

3. Использование $\Delta\bar{\mu}H^+$ для синтеза АТФ из АДФ и $Ф_н$ (10^{-3}—10^{-1} с) [Balchevsky, 1978; Petty, Jackson, 1979; Oren et al., 1980; Baccarini-Melandri et al., 1981] и (у пурпурных бактерий) восстановления НАД(Ф) [Борисов и др., 1970; Gest, 1972; Knaff, 1978; Самуилов, 1982].

Структурные элементы фотосинтетических мембран, в которых происходят указанные процессы, перечислены ниже.

1. Пигмент-белковые комплексы, ответственные за поглощение и миграцию энергии к ФРЦ [Clayton, Clayton, 1972; Ерохин и др., 1977; Drews, 1978; Sauer, Austin, 1978; Cogdell, Thornber, 1979; Thornber, Barber, 1979; Davidson, Cogdell, 1981; Brunisholz et al., 1981]. У большинства пурпурных бактерий имеется в основном только два типа светособирающих хлорофилл-белковых комплексов [см. обзор: Cogdell, Thornber, 1979]: а) комплекс В890, молекулярный вес которого ~20 кД, содержит две молекулы бактериохлорофилла *а* и один каротиноид; б) комплекс В800—850, состоящий из двух различных полипептидов с молекулярным весом ~10 кД каждый, содержит три молекулы бактериохлорофилла *а* и один каротиноид.

2. Пигмент-белковые комплексы ФРЦ, в которых происходит первичное разделение зарядов и их стабилизация [Blankenship, Parson, 1979b; Feher, Okamura, 1978; Рубин, 1980; Шувалов, Крас-

новский, 1981], а также компоненты ЦЭТ, расположенные вне реакционного центра [Dutton, Prince, 1978].

3. H^+-АТФ-синтетаза — мембранный белок, использующий $\Delta\bar{\mu}H^+$ для синтеза АТФ из АДФ и $Ф_н$ [Johanson, Balchevsky, 1975; Balchevsky, 1978; Müller, Balchevsky, 1979; Schneider et al., 1980].

Таким образом, в результате начальных стадий фотосинтеза энергия света трансформируется и аккумулируется в таких продуктах, как АТФ и НАД(Ф)Н. В последующих темповых реакциях фотосинтеза АТФ и НАД(Ф)Н обеспечивают восстановление $C0_2$ до углеводов и другие биохимические превращения.

Сопоставление последовательности первичных процессов фотосинтеза с последовательностью событий при окислительном фосфорилировании у митохондрий показывает, что наиболее существенное и принципиальное различие в процессах преобразования энергии при дыхании и фотосинтезе заключено в способе образования доноров и акцепторов электронов. В случае митохондрий— это субстраты типа НАДН или сукцината, окисляемые (посредством ЦЭТ) кислородом воздуха, в случае хроматофоров — это восстановленные акцепторы и окисленные доноры, образованные под действием света.

Состав и организация фотосинтетических реакционных центров пурпурных бактерий

Рассмотрим организацию ФРЦ пурпурных бактерий [см. обзор: Барский и др., 1976; Лоч, Хейлс, 1979; Рубин, 1980; Шувалов, Красновский, 1981; Самуилов, 1982; Коркин, Ионов, 1981, 1982а, б; Clayton, 1973; Parson, Cogdell, 1975; Clayton, Sistrom, 1978; Rubin, 1978; Blankenship, Parson, 1979b; Clayton, 1980].

В первичном акте разделения зарядов участвуют не все молекулы бактериохлорофилла, а только те из них, которые входят в состав ФРЦ. Основная же масса бактериохлорофилла и вспомогательных пигментов собирает и передает энергию на реакционный центр. С помощью детергентов из различных видов пурпурных бактерий были получены препараты ФРЦ, свободные от пигментов светособирающей антенны [см. обзор: Feher, Okamura, 1977, 1978; Parson, Cogdell, 1975]. Наиболее полно охарактеризован состав ФРЦ бескаротиноидного мутанта *Rhodopseudomonas sphaeroides* R-26 [Feher, Okamura, 1977, 1978]: 1) три белковые субъединицы—28, 24, 21 кД (соответственно *H, M, L*-субъединицы); 2) четыре бактериохлорофилла *a* (димер бактериохлорофилла *a* $(Бхл)_2$ с максимумом в спектре поглощения при 865 нм (Р870), и две молекулы с максимумом при 800 нм (Р800)); 3) два бактериофеофитина *a* с максимумом поглощения при 760 и 535 нм; 4) два убихинона [Okamura et al., 1975]; 5) один атом железа.

ФРЦ других фотосинтезирующих бактерий имеют сходный состав [Steiner et al., 1974; Feher, Okamura, 1978], за исключени-

ем того, что у диких штаммов в реакционном центре содержится специфический каротиноид [Jolchine, Reiss-Husson, 1975]. У *Chromatium vinosum* вместо убихинона обнаружен менахинон [Feher, Okamura, 1978]. Для осуществления первичных фотохимических реакций (фотоокисление P870 постоянным светом) достаточно лишь *L*- и *M*-субъединиц [Feher, Okamura, 1978]. Отметим, что распределение указанных выше компонентов по субъединицам еще не установлено. Тем не менее, с помощью метода фотоаффинного связывания радиоактивного аналога хинона (2-азидоантрахинона) показано, что после экстракции первичного хинона метка связывается в основном с *M* субъединицей [Marinetti et al., 1979]. Поэтому был сделан вывод, что первичный хинон расположен либо в *M* субъединице, либо в непосредственной близости от нее. Кроме того, путем удаления и реконструкции *H* субъединицы [Debus et al., 1981] показано, что *H* субъединица необходима для переноса электрона на вторичный хинон.

Много усилий было направлено на выяснение расположения ФРЦ в мембране и организации пигментов в нем. Некоторые данные такого рода собраны нами в табл. 4. Они позволяют заключить, что *H, M* и *L* субъединицы пересекают всю толщу мембраны. Причем *M* и *L* субъединицы более экспонированы с внутренней стороны мембраны хроматофоров. *M* субъединица, по-видимому, несколько более «выступает» с внешней стороны хроматофоров, нежели *L* субъединица.

Согласно данным по дифракции нейтронов [Pachence et al., 1981], ФРЦ, встроенный в бислойную мембрану, пронизывает всю ее толщу, и его масса асимметрично распределена вдоль нормали к плоскости мембраны.

Для определения взаимного расположения субъединиц ФРЦ использовали различные бифункциональные реагенты [Rosen et al., 1979; Wiemken et al., 1981]. При обработке бифункциональными агентами ФРЦ и цитохрома *c* лошади преимущественно связывались друг с другом *L*- и *H*-субъединицы, а также цитохром *c* с *L*- и *M*-субъединицами [Rosen et al., 1979]. В одной из работ Wiemken et al., 1981] глутаровый альдегид сшивал все три субъединицы реакционного центра; гидрофобный агент дитио-*бис*-сукцинимидилпропанат в больших концентрациях сшивал *L*- и *M*-субъединицы со светособирающим пигмент-белковым комплексом. При малых его концентрациях *H*-субъединицы связывались либо друг с другом, либо с другими мембранными белками, но не с *L*- или *M*-субъединицами [Wiemken et al., 1981]. Схема организации ФРЦ пурпурных бактерий, основанная на этих данных, представлена на рис. 7.

Расстояния между различными компонентами ФРЦ пурпурных бактерий оценивали с помощью методов ЭПР, кругового дихроизма и др.

Глубину погружения первичного хинона (Q_1) в белок реакционного центра оценивали по действию парамагнитных ионов (Gd^{3+}) на сигнал ЭПР (g=1,82) [Case, Leigh, 1974] и по эф-

Таблица 4. Определение расположения в мембране субъединиц фотосинтетического реакционного центра несерных пурпурных бактерий по их доступности для протеаз, антител и меток *

Метод	Объект	Препарат	Субъединицы *H M L*	Литературный источник
Обработка протеазами				
трипсин	Rps. sphaeroides	Хроматофоры	-- -- --	Hall et al., 1978
	То же	Сферопласты	++ -- --	Bachman et al., 1981
α-химотрипсин	»	Хроматофоры	++ -- --	То же
		Сферопласты	-- -- --	»
проназа	»	Хроматофоры	++ -+ -+	Ha11 e1; a!., 1978
протеиназа К	Rs. rubrum	Хроматофоры	++ +- +-	Wiemken et al., 1981
Связывание антител				
к *H* субъединице	Rps. sphaeroides	Хроматофоры	++ -- --	Valkirs et al., 1976 Feher, Okamura, 1978; Valkirs, Feher, 1981
	То же	Сферопласты	-+ -- --	
к *M.* субъединице	»	Хроматофоры	-- ++ --	Valkirs, Feher, 1981
	»	Сферопласты	-- ++ --	То же
к *L* субъединице	»	Хроматофоры	-- - - --	»
	»	Сферопласты	-- - - ++	»
Мечение				
5-[^{125}J]-йодонафтил-J-азид (гидрофобный)	Rs. rubrum	Хроматофоры	-+ ++ ++	Мейер и др., 1972 Odermatt et al., 1980
флуорескамин (гидрофобный)	Rs. rubrum	Хроматофоры	+ - ++ - -	Bachofen, 1979
пиридоксальфосфат + [^{3}H]KBH$_4$	Rps. sphaeroides	Хроматофоры	+ + - - - -	Francis, Richard, 1980
	То же	Сферопласты	- - - - - -	То же
йодированае [^{131}J]	Rs. rubrum	Хроматофоры	++ - - - -	Zurrer et al., 1977; Мейер и др., 1979
йодирование [^{125}J]	Rh. sphaeroides	Хроматофоры	+ - + - + -	Bachmann et al., 1981
	То же	Сферопласты	++ ++ ++	То же

* Знаками плюс (+) и минус (-) отменена соответственно доступность или недоступность для соответствующего реагента.

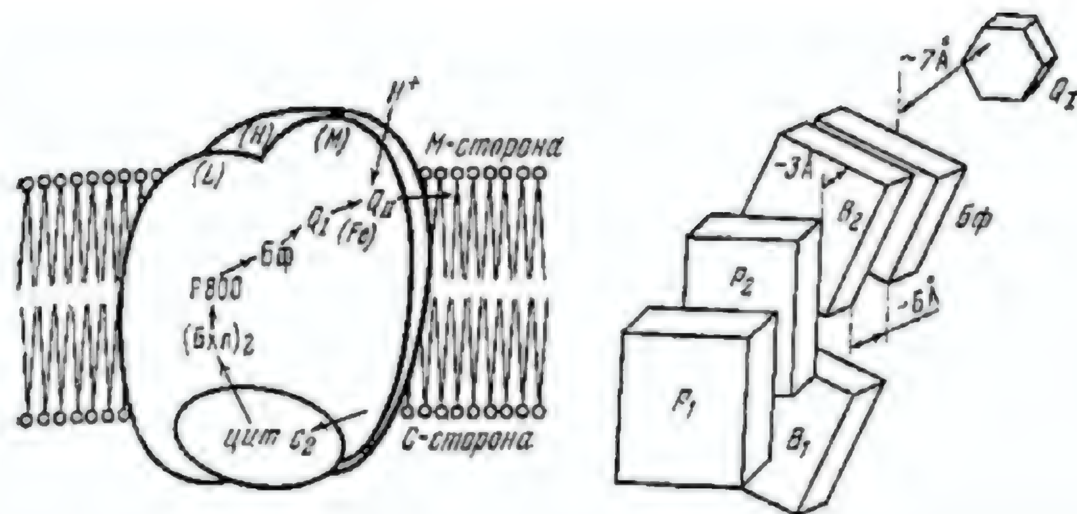


Рис. 7. Предполагаемая пространственная организация фотосинтетического реакционного центра пурпурных бактерий *Rhodopseudomonas sphaeroides*

L, M, H — легкая, средняя и тяжелая субъединицы ФРЦ (применение обозначений С и *М* сторон — по аналогии с рис. 4)

Рис. 8. Предполагаемая схема расположения основных «фотоактивных» молекул в бактериальных фотосинтетических реакционных центрах

P_1 и P_2 — макроциклы молекул бактериохлорофилла, входящих в состав первичного донора электронов; B_1 и B_2— макроциклы молекул бактериохлорофилла, поглощающих при 810 им и при 800 нм соответственно; *Бф* — бактериофеофитин, Q_1— первичный хинонный акцептор электронов [Шувалов, 1982]

фективности переноса электронов от бактериохлорофилла к нитроксидзамещенной стеариновой кислоте, у которой нитроксидное кольцо присоединено на различном расстоянии от карбоксильной группы [Giangrande, Kevan, 1981]. Оба метода дали значение около 10—15 Å.

Расстояние димера бактериохлорофилла Р870 от поверхности мембраны, определенное по влиянию ионов феррицианида на сигнал ЭПР катион-радикала, составляет около 10 Å [Богатыренко и др., 1982]. Как показал иммунологический анализ, цитохром c_2 (у *Rp. sphaeroides* и *Rp. capsulata*) находится на внутренней стороне хроматофоров [Prince et al., 1975].

Расстояния между редокс-компонентами ФРЦ пурпурных бактерий, а также их взаимную ориентацию оценивали в основном по их магнитному взаимодействию [Tiede et al., 1976; Tiede et al., 1978; Hales, Gupta, 1979; Okamura et al., 1979; Лихтенштейн и др., 1981].

Расстояние между цитохромом *c* и бактериохлорофиллом $(Бхл)_2$ у *Chr. vinosum* составляет не менее 13—15 Å [Tiede et al., 1978], расстояние между бактериофеофитином и первичным хиноном около 8—10 Å [Okamura et al., 1979; Лихтенштейн и др., 1981]. Расстояние между димером бактериохлорофилла и первичным хиноном (*Rb. rubrum*), оцененное по температурной за-

висимости спин-решеточной релаксации $(Бхл)_2^+$, составляет 30—36 Å [Куликов и др., 1979; Лихтенштейн, 1979; Богатыренко и др., 1982].

Ориентацию бактериохлорофиллов и бактериофеофитина исследовали с помощью линейного оптического дихроизма в пленках хроматофоров *Rp. sphaeroides* [Vermeglio, Clayton, 1976; Rafferti, Clayton, 1979], а также в хроматофорах и реакционных центрах, ориентированных в полиакриламидном геле [Абдурахманов и др., 1980; Ганаго и др., 1980; Абдурахманов, 1981]. Сравнение спектров ориентированных хроматофоров и препаратов ФРЦ показало, что длинная ось белка ФРЦ образует с плоскостью мембраны малый угол [Абдурахманов, 1981; Erokhin et al.,1981].

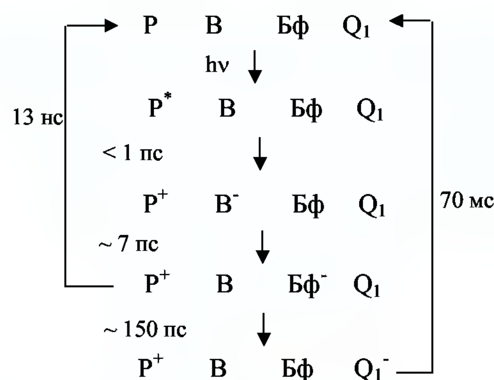
Сведения об ориентации первичного хинона противоречивы. Указывается [Hales, Gupta, 1979] у *Rs. rubrum* на параллельное и у *Chr. vinosum*— на перпендикулярное [Tiede, Dutton, 1981] расположение плоскости молекулы, относительно плоскости мембраны. Для цитохромов, непосредственно донирующих электроны бактериохлорофиллу реакционного центра, было установлено, что плоскости гемов высокопотенциального цитохрома приблизительно перпендикулярны [Tiede et al., 1978; Vermeglio et al., 1980a], в то время как низкопотенциального — приблизительно параллельны плоскости мембраны [Tiede et al., 1978].

Обзор данных о взаимодействии пигментов в ФРЦ пурпурных бактерий, полученных с помощью оптических методов (круговой дихроизм, фотодихроизм и линейный дихроизм ориентированных реакционных центров), приведен в работе В. А. Шувалова и А. А. Красновского [1981]. На рис. 8 показана схема взаимного расположения «фотоактивных» пигментов ФРЦ пурпурных бактерий (содержащих бактериохлорофилл *a*) [Шувалов, 1982].

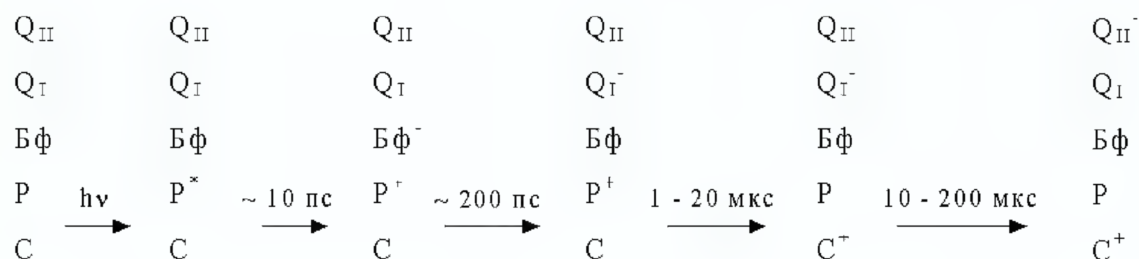
Перенос электронов в ФРЦ

В настоящее время не совсем ясно, каким образом участвуют в первичном разделении зарядов все пигменты ФРЦ. Предполагается, что за время 1—2 пс электрон от димера бактериохлорофилла переходит на одну из молекул Р800, откуда через ~7 пс электрон переносится на одну из двух молекул бактериофеофитина [Holten et al., 1980; Клеваник и др., 1981; Клеваник, 1982; Шувалов, 1982]. Далее, за время 100—200 пс он переносится на первичный хинон (Q_1) [Шувалов и др., 1978; Kaufmann et al., 1975; Rockley et al., 1975; Pellin et al., 1978; Шувалов, 1982].

Таким образом, последовательность переноса электронов в ФРЦ пурпурных бактерий можно представить в следующем виде [Шувалов, 1982]:



Окисленный бактериохлорофилл ФРЦ может, в свою очередь, получить электрон от цитохрома типа с через 0,5—20 мкс (в зависимости от вида бактерии) [Kihara, Chance, 1969; Parson, Case, 1970; Dutton, Prince, 1978; Overfield et al., 1979]. От первичного хинона электрон может быть перенесен на вторичный хинон (Q_{II}) за время 10—200 мкс [Parson, 1969; Chammorovsky et al., 1976; Vermeglio, Clayton, 1977]. Опуская, для простоты, бактерио-хлорофилл Р800, эти реакции могут быть представлены в следующем виде [Blankenship, Parson, 1979b]:



Здесь Р — димер бактериохлорофилла, являющийся первичным донором электронов; Бф — бактериофеофитин; Q_I, Q_{II} — первичный и вторичный хинон, ассоциированные с железом; *С* — цитохром. В ряде работ дан обзор кинетики первичных стадий переноса электронов в бактериальных ФРЦ [Рубин, 1980; Шувалов, Красновский, 1981; Blankenship, Parson, 1979b; DeVault, 1980].

Хинонные переносчики электронов в бактериальном фотосинтезе

В фотоиндуцированном транспорте электронов у фотосинтезирующих бактерий участвуют, по крайней мере, четыре различных популяции хинонов [Wraight, 1979a].

1. Первичный метастабильный акцептор электронов ФРЦ (Q_I).
2. Вторичный акцептор электронов ФРЦ (Q_{II}).
3. Компонент Q_Z, функционирующий в *QЬс₂* оксидоредуктазе.
4. Большой пул хинонов (~25 молекул на ФРЦ).

После активации ФРЦ вспышкой света электрон от комплекса пигментов за 100 —200 пс [см. обзор: Blankenship, Parson, 1979b]

попадает на первичный хинон, при этом образуется Q_I^- (Wraight, 1979a].

Эксперименты по экстракции хинонов показали, что вторичным акцептором электронов у *Rp. sphaeroides*, *Rs. rubrum* and *Chr. vinosum* является убихинон [Cogdell et al., 1974; Halsey, Parson, 1974; Parson, 1978]. Вторичный хинон, в отличие от первичного, может функционировать как двухэлектронный переносчик [Wraight, 1979a]. В присутствии донора электронов после продолжительной темновой адаптации в препаратах ФРЦ наблюдаются двухтактные колебания концентрации семихинонной формы Q_{II}, индуцируемые последовательными вспышками света [Vermeglio, 1977; Wraight, 1977]: под действием нечетных вспышек света происходит образование семихинона (анион-радикала) Q_{II}, а под действием четных — его исчезновение, обусловленное восстановлением до хинола.

При pH меньше 8 скорости переноса электронов от Q_I к Q_{II} на четную и нечетную вспышки света близки друг к другу — около 200 мкс при pH 7,5 [Wraight, 1978; 1979b]. При более высоких значениях pH скорость переноса электронов на четные вспышки света меньше, чем на нечетные, и существенно зависит от pH [Wraight, 1979b]. При pH среды больших 6 происходит захват протонов препаратами ФРЦ после активации их единичной вспышкой света. Поскольку в этих условиях Q_{II} находится в анион-радикальной форме, то отсюда следует, что под действием единичной вспышки света происходит протонирование некоторой группы белка [Wraight, 1978, 1979b], а не хинонных акцепторов, как это предполагалось ранее [Petty, Dutton, 1976a]. До сих пор неясна роль железа, взаимодействующего с первичным и вторичным хинонами. В ФРЦ железо находится в восстановленном (Fe^{2+}) высокоспиновом состоянии [Debrunner et al., 1975; Butler et al., 1980; Boso et al., 1981]. С железом взаимодействуют оба хинона ФРЦ [Wraight, 1979a], образуя феррохиноновый комплекс [Okamura et al., 1975]. Блэнкеншип и Парсон [Blankenship, Parson, 1979a] обнаружили, что при удалении железа из ФРЦ появляются центры, в которых невозможен перенос электронов от Q_I к Q_{II}. Вместе с тем удаление железа сопровождается отщеплением тяжелой (*H*) субъединицы ФРЦ [Debus et al., 1981], что не позволяет сделать однозначный вывод о функциональной роли железа. С помощью различных методов [Butler et al., 1980; Eisenberger et al., 1982; Bunker et al., 1982] было показано, что хиноны не являются непосредственными лигандами железа, поскольку удаление хинонов не меняет существенно координационной сферы железа. Были предложены модели, в которых взаимодействие железа с белком ФРЦ осуществляется за счет атомов азота имидазольного кольца гистидина [Bunker et al., 1982; Eisenberger et al., 1982].

Циклический транспорт электронов

Имеющиеся в настоящее время данные свидетельствуют о том, что циклический транспорт электронов у пурпурных бактерий осуществляется комплексом переносчиков, сходным с комплексом III дыхательной цепи митохондрий [Crofts, Wood, 1978; Dutton, Prince, 1978; Wood, 1980; Bowyer, Crofts, 1981; Takamiya et al., 1982].

Недавно в трех различных лабораториях из бактерий *Rhodopseudomonas sphaeroides* был выделен цитохромный комплекс *b*—c_1, обладающий убихинол-цитохром-c_2-оксидоредуктазной активностью [Takamiya et al., 1982; Gabellini et al., 1982; Yu, Yu, 1982] (табл. 5).

В каждом из выделенных препаратов были обнаружены цитохромы c_1 и *b,* негемовое железо (FeS_R) и убихинон (табл. 6). Редокс-титрование препаратов *b*—c_1-комплексов свидетельствует о наличии двух цитохромов *b* с близкими спектральными свойствами. Интересно, что для выделенного комплекса было показано восстановление цитохромов *b,* индуцированное в присутствии антимицина А феррицианидом (эффект «сверхвосстановления») [Gabellini et al., 1982].

Если до самого последнего времени при анализе кинетики переноса электронов приходилось пользоваться гипотетическими схемами с неизвестной стехиометрией компонентов, то выделение цитохромных комплексов из пурпурных бактерий приводит к качественно новому уровню понимания процессов преобразования энергии при циклическом транспорте электронов.

Таблица 5. Субъединячный состав цитохромного *b*—с-комплекса

Организм	Молекулярный вес, кД	Литературный источник
Rps. sphaeroides	47 42 38 32 30 24 16 — —	Takamiya et al., 1982
Тоже	48 — — — 30 24 — 12 —	Yu, Yu, 1982
»	— — 40 33 — 25 — — —	Gabellini et al., 1982
Бык	49 45 — 34 29 24 — 12,7, 11	Marres, Slater, 1977
»	50 46 — 32 29 25 14 12,5, 9	Bell, Capaldi, 1976
Дрожжи	50 48 40 — 30 25 13,5 12,5 12,5	Bill et al., 1982

Таблица 6. Характеристика различных препаратов несерных пурпурных бактерий

Цитохром c_1	Цитохром *b*	Негемовое железо	Убихинон	Литературный источник
8,3	8,3	15	5	Yu, Yu, 1982
5 (285 мВ)	10 (50, - 60 мВ)		2—3	Gabellini et al., 1982
1,54 (245 мВ)	3,42 (60, -75 мВ)	6,37	7,07	Takamiya et al., 1982

Цифрами указано количество в нМ/мг белка.

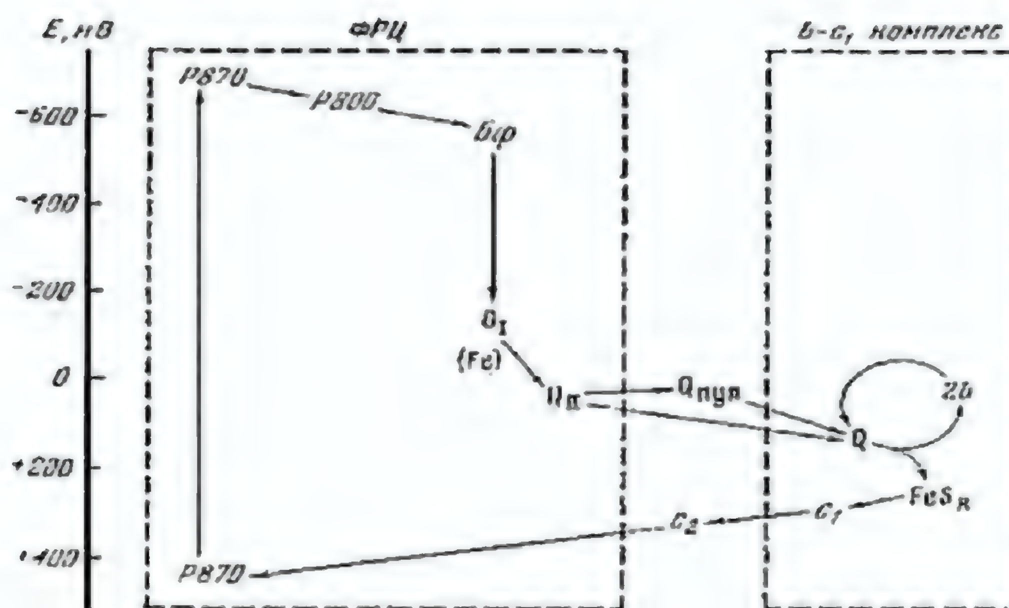


Рис. 9. Схема циклического транспорта электронов у несерных пурпурных бактерий, представленная в виде сопряжения ФРЦ и комплекса b—c_1, аналогичного комплексу III дыхательной цепи митохондрий

Связь этих комплексов осуществляется либо непосредственно, либо через подвижные переносчики электронов — убихинон ($Q_{пул}$) и цитохром c_2

Редокс-реакции компонентов циклического транспорта электронов наиболее изучены у пурпурных бактерий *Rp. sphaeroides* (рис.9).

Фотоокисленный димер бактериохлорофилла ФРЦ восстанавливается цитохромом c_2, имеющим редокс-потенциал 360± ±15 мВ при рН 7 и максимум поглощения при 550,5±0,5 нм [Pettigrew et al., 1978; Wood, 1980; Meinhardt, Crofts, 1982]. Окисленный цитохром c_2 восстанавливается другим цитохромом типа *c* с редокс-потенциалом около 290 мВ при рН 7 и максимумом поглощения при 552,0±0,5 нм [Wood, 1980; Meinhardt, Crofts, 1982]. Этот цитохром иногда обозначают как c_b [Bowyer, Crofts, 1981]. Цитохром c_b соответствует, по-видимому, компоненту со среднеточечным потенциалом ~295 мВ, наблюдавшемуся ранее при редокс-титровании индуцированных вспышкой света изменений поглощения при 551 нм [Dutton et al., 1975; Prince, Dutton, 1977]. Вероятно, что цитохром c_2, подобно цитохрому *c* в ЦЭТ митохондрий, функционирует в качестве подвижного переносчика электронов между c_b (аналогичного митохондриальному цитохрому c_1) и реакционным центром. Донором электронов для цитохромов *c* является железосерный центр Риске [Bowyer et al., 1980], $E_{ср,7}$ которого равен 280 мВ [Prince, Dutton, 1976; Bowyer et al., 1980]. Восстановление цитохромов железо-серным центром

Риске происходит быстрее, чем за 1 мс, однако вследствие близости редокс-потенциалов, железосерный центр не полностью окисляется после единичной вспышки света [Bowyer et al., 1980]. Перенос электронов от железосерного центра к цитохрому c_2 ингибируется аналогом убихинона — 5-*н*-ундецил-6-гидрокси-4,7-диоксобензотиазолом (УГДБТ), но не чувствителен к антимицину [Bowyer et al., 1979; Bowyer et al., 1980]. Вместе с тем восстановление фотоокисленного цитохрома c_2 замедляется на два порядка в присутствии как УГДБТ [Bowyer et al., 1980], так и антимицина [Dutton, Prince, 1978]. Предполагается, что наиболее важную роль в этой медленной реакции восстановления играет компонент Q_Z, по-видимому, хинонной природы [Prince, Dutton, 1977]. Его окислительно-восстановительные свойства определены косвенными методами, в основном исходя из зависимости скорости восстановления фотоокисленного цитохрома c_2 от редокс-потенциала среды при различных pH [Prince, Dutton, 1977]. Считается, что Q_z является двухэлектронным переносчиком, $E_{ср,7}$ которого составляет около 150 мВ [Prince, Dutton, 1977]. Редокс-состояние Q_z определяет скорость циклического переноса электронов после активации ФРЦ вспышкой света. Если Q_z окислен перед вспышкой света, то восстановление фотоокисленного цитохрома c_2 происходит в течение сотен миллисекунд. Если же Q_z восстановлен, то восстановление фотоокисленного цитохрома c_2 происходит в течение нескольких миллисекунд [Prince, Dutton, 1977].

Другим компонентом, функционирующим в циклической ЦЭТ, является цитохром b_{50} с $E_{ср,7}$=50 мВ [Petty, Dutton, 1976b] и максимумом поглощения 560,5 нм [Bowyer, Crofts, 1981]. В настоящее время механизм окисления и восстановления цитохрома еще не полностью понят. В окислительных условиях ($E_H \geq 150$ мВ) цитохром b_{50} восстанавливается под действием вспышки света, в то время как в восстановительных условиях ($E_H \geq$ 100 мВ) он окисляется [Dutton, Prince, 1978].

Антимицин ингибирует реакцию окисления цитохрома. Скорость фотоиндуцированного восстановления цитохрома b_{50} увеличивается при понижении редокс-потенциала среды [Petty, Dutton, 1976b; Bowyer, Crofts, 1981]. Использование высокого временного разрешения позволяет обнаружить в восстановлении цитохрома лаг-фазу в 100—500 мкс [Bowyer, Crofts, 1981].

Сложное кинетическое поведение цитохрома b_{50}, а также других компонентов циклического транспорта электронов анализируются на основе кинетических схем, полностью аналогичных рассмотренным выше при анализе функционирования комплекса III митохондриальной ЦЭТ.

Специфика фотосинтетической ЦЭТ состоит в том, что при активации ФРЦ вспышкой света одновременно образуются окислитель (окисленный пигмент) и восстановитель (восстановленный вторичный хинон). Поэтому в зависимости от того, в восстановительных или окислительных условиях происходит транспорт

электронов, он может быть инициирован в комплексе III как путем окисления цитохрома (восстановительные условия), так и путем восстановления хинона (окислительные условия).

1.6. ЦЭТ хлоропластов

В настоящее время считается, что для фотосинтетического восстановления НАДФ хлоропластами необходимо участие двух функционально-сопряженных фотосистем — второй (ФС II) и первой (ФС I) (рис. 10).

Энергия света используется для разложения H_2O (система разложения воды ФС II), переноса электронов от воды к ФС I, где происходит восстановление НАДФ, а также для образования $\Delta\bar{\mu}H^+$, используемого для синтеза АТФ [Hauska, Trebst, 1977; Witt, 1979].

ЦЭТ хлоропластов представлена, по крайней мере, тремя электронтранспортными комплексами: пигмент-белковым комплексом фотосистемы II, который включает в себя фотохимиче-

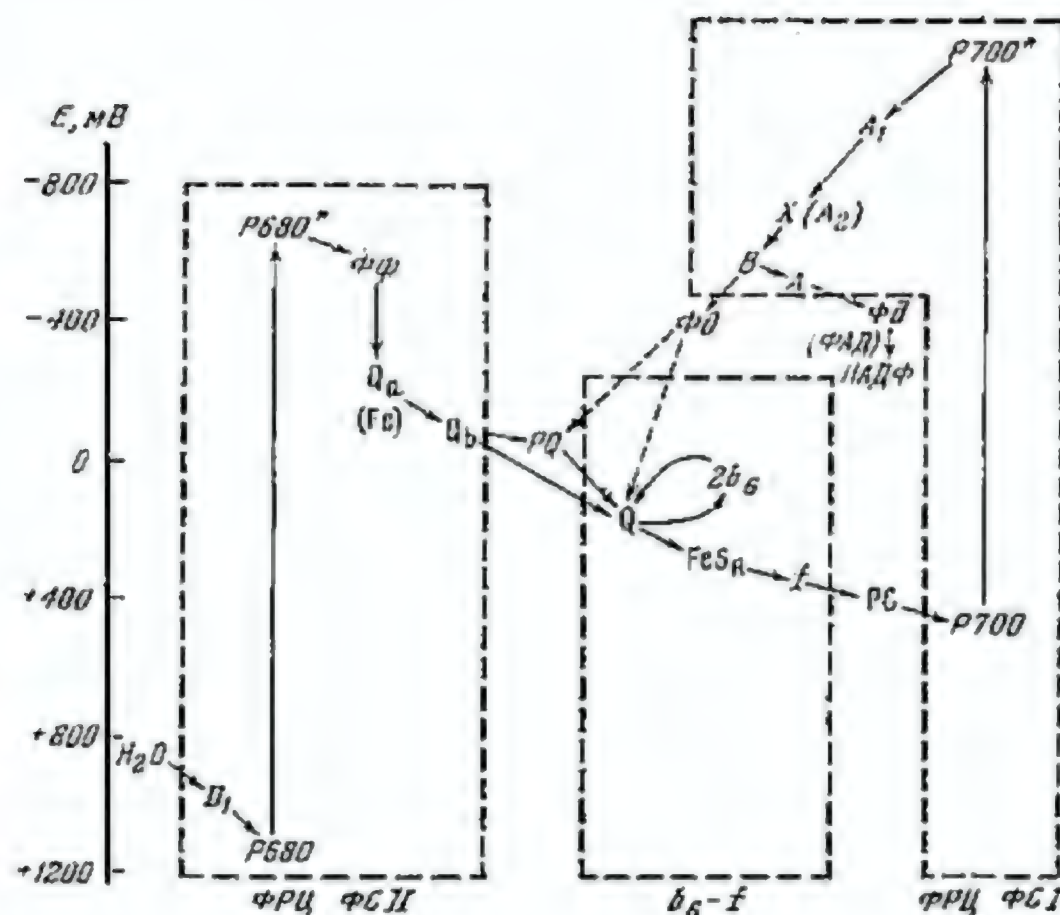


Рис. 10. Упрощенная схема первичных электронтранспортных реакций фотосинтеза высших растений, представленная в виде сопряжения двух фотосинтетических реакционных центров (ФРЦ ФС II, ФРЦ ФС I) и цитохромного комплекса b_6—f аналогичного комплексу III дыхательной цепи митохондрий

PC — пластоцианин, *Фд* — ферредоксин

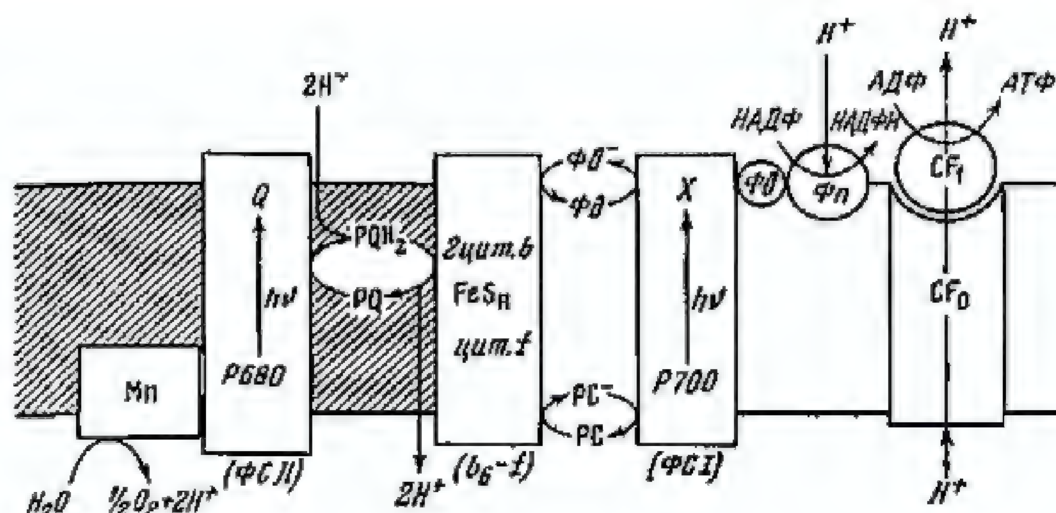


Рис. 11. Схема молекулярной организации электронного транспорта в хлоропластах

Пигмент-белковый комплекс фотосистемы I (ФС I), а также АТФазный комплекс (CF_1) + (CF_0) находятся главным образом в нестыкованной области гранальных тилакоидов и ламеллах стромы (не заштрихована). Пигмент-белковый комплзкс фотосистемы II (ФС II), а также светособирающий комплекс (не показан) находятся в основном в состыкованных областях стопок гран (заштрихована). Цитохромный комплекс b_6—f — аналог митохондриального комплекса III — равномерно распределен между стыкованными и нестыкованными областями тилакоидов. Предполагается, что пластохинон (PQ) соединяет между собой комплекс фотосистемы II и b_6—f -комплекс, а пластоцианин (PC) и ферредоксин (Фд)— комплекс b_6—f с комплексом фотосистемы I. *Фп* — ферредоксин-НАДФ-редуктаза, содержащая ФАД, *Mn* — система разложения воды, сопряженная с комплексом фотосистемы II, содержащая марганец

ски–активный пигмент Р680 и непосредственные доноры и акцепторы; пигмент-белковым комплексом фотосистемы I, включающим фотохимически активный пигмент Р700 и непосредственные акцепторы; а также комплексом b_6—f, содержащим цитохром f, два цитохрома b_6 и железосерный белок Риске (рис. 11). Рассмотрим эти электрон-транспортные комплексы более подробно.

Фотосистема I

Выделенный [Bengis, Nelson, 1975, 1977] реакционный центр I, способный на свету восстанавливать НАДФ и окислять пластоцианин, состоял из шести субъединиц с молекулярным весом 70, 25, 20, 18, 16 и 8 кД. Сходный состав комплекса реакционного центра ФС I был обнаружен в других работах [Orlich, Hauska, 1980; Hauska et al., 1980; Nechustai, Nelson, 1981]. Удаление малых субъединиц с помощью СДС приводит к потере ферредоксинзависимого фотовосстановления НАДФ и фотоокисления пластоцианина; в то же время сохраняется светоиндуцированное окисление Р700 [Bengis, Nelson, 1977]. Это означает, что один из первичных акцепторов электронов ФС I находится в большой субъединице вместе с Р700. Недавно была показана

Таблица 7. Свойства вторичных акцепторов ФС I *

Акцептор	Значения g-фактора			Среднеточечный редокс-потенциал pH 10, мВ
	x	y	z	
A	1,86	1.94	2,05	- 550
B	1,89	1,92	2,05	- 590
$X(A_2)$	1,78	1,88	2,08	- 730

* Свойства центров A и B приведены по работе Эванса и др. [Evans et al., 1977; Heathcote et al., 1978], свойства центра X — по [Ke, 1978; Evans, 1977].

способность большой субъединицы, встроенной в липосомы, осуществлять фотоиндуцированный перенос протонов через мембрану [Hauska, 1980] в присутствии восстановленного ФМС.

От возбужденного P700 электрон переносится к первичному акцептору, которым является, вероятно, другая молекула хлорофилла — Хл-695 [Shuvalov et al., 1979c; Шувалов, Красновский, 1981), причем перенос электрона от P700 к Хл-695 происходит за время менее 40 пс. Затем за 200 пс электрон переносится на железосерные центры [Shuvalov et al., 1979a, b, c; Шувалов, Красновский, 1981] (табл. 7 и рис. 10). Стандартной процедурой, используемой для исследования первичных акцепторов электронов, является восстановление в темноте известных акцепторов электронов и последующее освещение препаратов с целью определения фотохимической активности пигмента ФРЦ. Такая процедура была успешно применена для фотосинтезирующих бактерий и для ФРЦ зеленых растений. Именно таким образом, с помощью ЭПР и абсорбционной спектроскопии, было обнаружено несколько промежуточных переносчиков электрона между первичным донором и водорастворимым ферредоксином [см. обзор: Шувалов, Красновский, 1981; Evans, 1977; Bolton, 1977; Ke, 1978; Mathis, Paillotin, 1981]. По-видимому, все три железосерных центра, представленных в табл. 8, относятся к типу 4Fe-4S [Evans et al., 1981; Evans, 1977]. Обнаруженное магнитное взаимодействие между центрами A и B свидетельствует об их близком расположении друг к другу [Aasa et al., 1981].

Электрон с центра A или B переносится на растворимый ферредоксин, откуда он может быть перенесен к НАДФ с помощью ферредоксин: НАДФ оксидоредуктазы, содержащей ФАД [см. обзор: Bolton, 1977; Clayton, 1980]. Не исключено, что между центрами A и B существует эффективный обмен электронами [Nugent et al., 1981b].

Электроны от фотовосстановленных акцепторов ФС I могут поступать не только к НАДФ, но и возвращаться обратно к P700 циклическим путем. Этот процесс сопровождается образованием $\Delta\bar{\mu}H^+$. По-видимому, циклический транспорт электронов

вокруг ФС I связан с переносом электронов через комплекс переносчиков, аналогичный комплексу III дыхательной цепи [Nelson, Neuman, 1972; Arnon, Chain, 1979; Malkin, Chain, 1980; Crowther, Hind, 1980; Hurt, Hauska, 1981]. Этот комплекс b_6—f состоит из пяти полипептидов (34, 33, 24, 20 и 18 килодальтон) и содержит один гем цитохрома *f*, два тема цитохрома b_6 (*b*-563) и один железосерный центр Риске. Он не содержит пластоцианина, цитохрома *b*-559, а также практически не содержит хлорофилла и каротиноидов. Для этого комплекса была показана пластохинол-пластоцианин-оксидоредуктазная активность [Hurt, Hauska, 1981]. Этот же комплекс участвует в переносе электронов от ФС II к ФС I. В модельных экспериментах была продемонстрирована возможность взаимодействия комплекса b_6—f как с комплексом реакционного центра ФС I, так и с комплексом реакционного центра ФС II [Lam, Malkin, 1982a, b, c].

Фотосистема II

Фотосистема II зеленых растений окисляет воду до кислорода и восстанавливает пул пластохинонов (рис. 10) [см. обзоры: Knaff, 1977; Amesz, Duysens, 1977; Radmer, Cheniae, 1977; Govindjee, Jursinic, 1979; Bouges-Bocquet, 1980; Mathis, Paillotin, 1981; Klimov, Krasnovskii, 1981; Vermaas, Govindjee, 1981; Шувалов, Красновский, 1981; Климов, Красновский, 1982].

Как было обнаружено в последнее время, акцепторная часть фотосистемы II высших растений аналогична таковой у пурпурных бактерий (табл. 8).

После активации фотосистемы II светом электрон от пигмента Р680 меньше чем за 1 нс [Shuvalov et al., 1980] переносится на феофитин [Клеваник и др., 1977; Климов, Красновский, 1982; Klimov et al., 1977], редокс-потенциал которого составляет — 610±30 мВ [Климов и др., 1979]. Далее электрон переносится на пластохинон, ассоциированный с атомом железа [Климов, Красновский, 1982; Nugent et al., 1981], приводя к образованию анион-радикала пластосемихинона, как это следует из спектра поглощения в ближней ультрафиолетовой области [Van Gorkom,

Таблица 8. Сравнение первичных доноров и акцепторов электронов в различных фотосинтетических реакционных центрах [Clayton, 1980]

Тип ФРЦ	Донор электронов	Акцепторы электронов
ФС II	Хл *a* (мономер или димер) $E_0^{'} \approx 0,8$ В	Фф *a*, Q_a, Q_b . (пластохинон)
Пурпурные бактерии	Бхл *a* (димер) $E_0^{'} \approx 0, 4$ В	Бф а, Q_a, Q_b
Зеленые серные бактерии	Бхл *a* (димер) $E_0^{'} \approx 0,3$ В	(Бф а) FeS-белок
ФС I	Хл *a* (димер) $E_0^{'} \approx 0,4$ В	(Хл. а) FeS-белок

1974; Van Gorkom et al., 1975]. От первичного хинона, обозначаемого Q [Amesz, Duysens, 1977] или Q_a [Clayton, 1980], электрон переносится ко вторичному хинону *b* [Bouges-Bocquet, 1973], R [Velthuys, Amesz, 1974], Q_b [Clayton, 1980], который является двухэлектронным переносчиком [Bouges-Bocquet, 1973; Velthuys, Amesz, 1974; Pulles et al., 1976]. Далее электроны могут поступать в пул хинонов или на переносчики b_6—*f*-комплекса.

Доноры электронов для Р680 на окислительной стороне фотосистемы II и интермедиаты выделения кислорода еще не идентифицированы, и сведения о транспорте электронов от воды к Р680 основаны на косвенных экспериментах. Было показано, что выход кислорода под действием серии коротких насыщающих вспышек света обнаруживает четырехтактную периодичность, что объясняется накоплением четырех положительных зарядов в системе разложения воды [см. обзор: Radmer, Cheniae, 1977]. Соответствующие окислительные состояния системы разложения воды обозначают S_0, S_1, S_2, S_3, S_4 [Кок et al., 1970]. Переход состояния S_4 в состояние S_0 сопровождается выделением кислорода и происходит в темноте со временем 1 мс. Состояния S_4 и S_0 стабильны в темноте, а S_2 и S_3 медленно превращаются в S_1.

Латеральная неоднородность мембран хлоропластов

Вероятно, ни у одних энергопреобразующих мембран латеральная неоднородность распределения редокс-эквивалентов и сопрягающего фактора не выражена так ярко, как у выделяющих кислород растений.

В 1966 г. Изава и Гуд [Izawa, Good, 1966] показали, что мембраны разрушенных хлоропластов расстыковываются при суспендировании в среде, содержащей низкую концентрацию моновалентных ионов. При добавлении двухвалентных катионов, или высокой концентрации моновалентных катионов опять появляются гранальные (стыкованные) структуры. На основе этого наблюдения и анализируя распределение частиц на электронных микрофотографиях, соответствующих сопрягающему фактору, был сделан вывод [Miller, Staehelin, 1976], что он почти исключительно расположен в расстыкованных областях тилакоидной мембраны; причем расстыковка мембран приводит к перераспределению сопрягающего фактора вдоль мембран, а их стыковка - к сбору сопрягающего фактора в расстыкованных областях.

Исходя из изучения различных фракций, полученных с помощью водной полимерной двухфазной системы, был сделан вывод, что все пигмент-белковые комплексы ФС I локализованы в расстыкованных областях, в то время как пигмент-белковый комплекс ФС II и светособирающий комплекс в основном находятся в стыкованных областях [Anderson, Anderson, 1980; Anderson, 1980; Gerola, 1981; Anderson, Haehnel, 1982; Anderson, 1982]. Од-

нако анализ распределения компонентов b_6—f-комплекса показал, что они присутствуют как в стыкованных, так расстыкованных областях [Sane et al., 1970; Anderson, Malkin, 1982; Anderson, 1982]. На основе иммунологического анализа выяснено также, что ферредоксин-НАДФ-редуктаза также локализована в расстыкованных областях [Jennings et al., 1979]. Таким образом, в последнее время признано, что сопрягающий фактор, ферредоксин-НАДФ-редуктаза и ФС I локализованы в расстыкованных областях мембран (обращенных в строму районах), в то время как пигмент-белковый комплекс ФС II и светособирающий комплекс в основном находятся в стыкованных областях мембраны (рис. 11), а сам процесс стыковки—расстыковки регулируется pH, ионным составом среды, энзиматической модификацией белков и др. [см. обзоры: Anderson, 1980; Barber, 1980; Gerola, 1981; Anderson, 1982; Briantais et al., 1982].

Обнаруженная в последнее время латеральная неоднородность процессов переноса электронов и энергии возбуждения при фотосинтезе кислородвыделяюших растений коренным образом меняет наши представления об организации электронного транспорта и миграции энергии у высших растений [Anderson, 1980; Barber, 1980; Gerola, 1981; Briantais et al., 1982; Anderson, 1982] и имеет важное значение для понимания контроля и организации функционирования тилакоидных комплексов. Наиболее важным следствием латеральной неоднородности в распределении комплексов является вывод об отсутствии единой функционально-структурной цепи электронного транспорта.

1.7. Сопоставление различных ЦЭТ

Процессы преобразования энергии в мембранах митохондрий, хлоропластов и хроматофоров фотосинтезирующих бактерий обладают фундаментальным сходством [Скулачев, 1972; Рэкер, 1979; Гусев, Гохлернер, 1980; Mitchell, 1966; Skulachev, 1975; Dickerson et al., 1976; Crofts, Wood, 1978; Raven, Smith, 1981; Cammack et al., 1981]. Во всех этих системах используется единый принцип сопряжения транспорта электронов с синтезом АТФ — через образование $\Delta\bar{\mu}H^+$. В этом смысле все ЦЭТ играют роль протонных помп, основная энергетическая функция которых состоит в преобразовании энергии редокс-реакций в энергию перенесенных через мембрану протонов. Образовавшаяся в результате такого переноса $\Delta\bar{\mu}H^+$ используется для синтеза АТФ.

ЦЭТ хлоропластов и хроматофоров содержат переносчики электронов, имеющие свои аналоги в митохондриальной цепи, что позволяет считать, что и фотосинтетические ЦЭТ, подобно митохондриальной, построены по блочному принципу. К числу таких переносчиков относятся пластохинон в хлоропластах и убихинон в хроматофорах, цитохромы типа *b,c,* железосерные цент-

ры и т. д. Для всех этих цепей характерна асимметричная организация переносчиков электронов в мембране, согласованная с ориентацией АТФазы (рис. 4, 7, 11). Сходство простирается также и на АТФазы, которые имеют практически идентичный субъединичный состав (Harold, 1977; McCarty, 1978; 1980).

Нам представляется, что сходство этих ЦЭТ прослеживается на уровне не только отдельных переносчиков электронов, но и отдельных электрон-транспортных комплексов. В этом смысле отдельные переносчики электронов в том или ином комплексе могут отсутствовать в случае приспособления комплекса для работы в других условиях. Например, у некоторых синезеленых водорослей Wood, 1978; Bochner et al., 1980; Sandmann and Böger, 1980] в переносе электронов принимают участие, в зависимости от условий роста, либо пластоцианин, либо цитохром c_{553}. По-видимому, именно целые электронтранспортные комплексы необходимо рассматривать как минимальную функциональную единицу, обеспечивающую сопряжение переноса электронов с образованием $\Delta\bar{\mu}H^+$.

Как родственные слова отличаются друг от друга приставками и суффиксами, но сохраняют практически неизменным корень слова, точно так же родственные комплексы могут отличаться друг от друга определенными «приставками», которые хотя и несколько меняют комплекс, обеспечивая его функционирование в строго определенных условиях, но, тем не менее, оставляют неизменной его функциональную основу.

Сравнительный анализ электронтранспортных комплексов, участвующих в преобразовании энергии, приводит к выводу, что количество «корневых основ», на которых развивалась энергетика электронтранспортных процессов, по-видимому, не слишком велико [Skulachev, 1975; Crofts, Wood, 1978]. Причина этого, возможно, состоит в том, что созданные природой и отобранные в результате эволюции комплексы переносчиков оказались достаточно универсальными, чтобы удовлетворить энергетические потребности различных организмов.

Как показано на рис. 12 и 13, полные ЦЭТ могут быть представлены в виде набора небольшого числа энергопреобразующих комплексов. На рис. 14 все эти комплексы находятся на одной энергетической шкале. В центре рис. 14 расположен третий комплекс, содержащий цитохромы типа *b,* цитохром типа c_1 и железосерный белок Риске.

Среди комплексов, способных генерировать $\Delta\bar{\mu}H^+$, он является, по-видимому, наиболее универсальным, поскольку присутствует в ЦЭТ митохондрий [Rieske, 1976], хлоропластов [Nelson, Neuman, 1972; Hurt, Hauska, 1981] и хроматофоров [Crofts, Wood, 1978; Dutton, Prince, 1978; Takamiya et al., 1982]. Близость свойств этого комплекса у различных типов сопрягающих мембран была продемонстрирована недавно в экспериментах по реконструкции ФРЦ пурпурных бактерий с комплексом III митохондрий [Packham et al., 1980; Matsuura, Dutton, 1981] и с

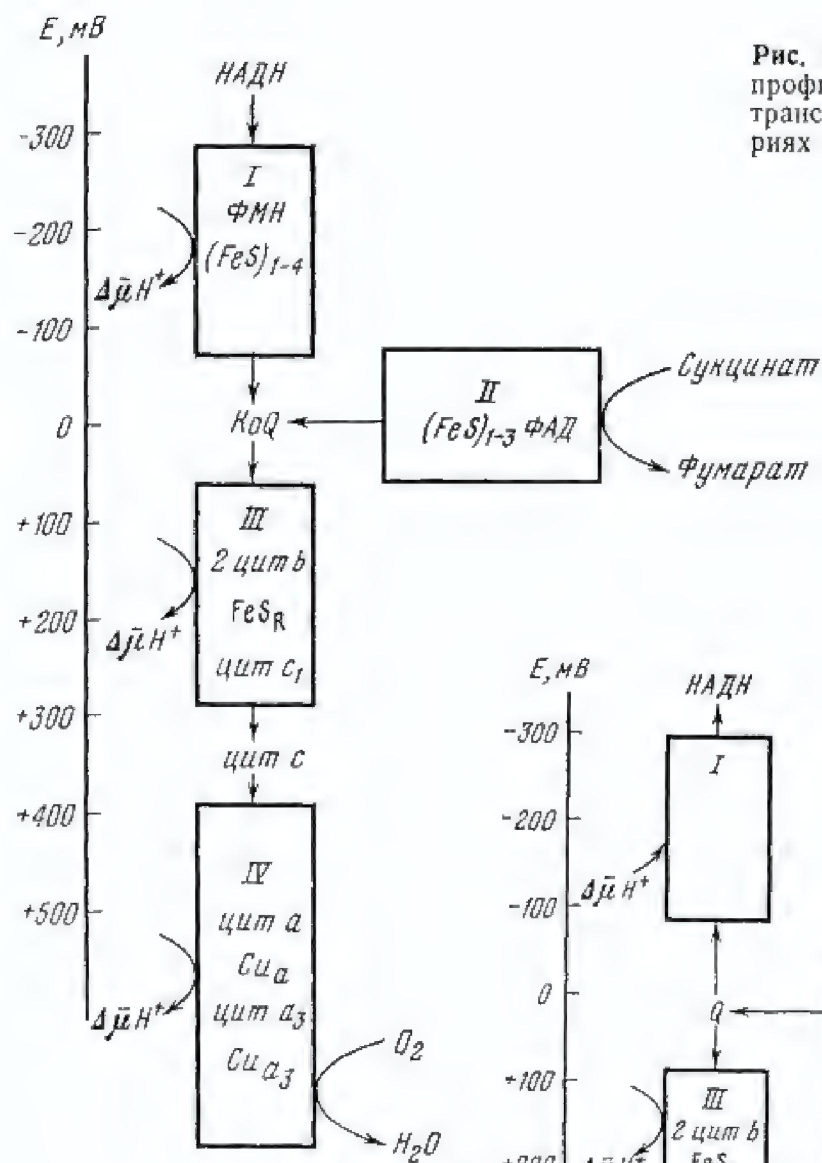


Рис. 12. Энергетический профиль электронного транспорта в митохондриях

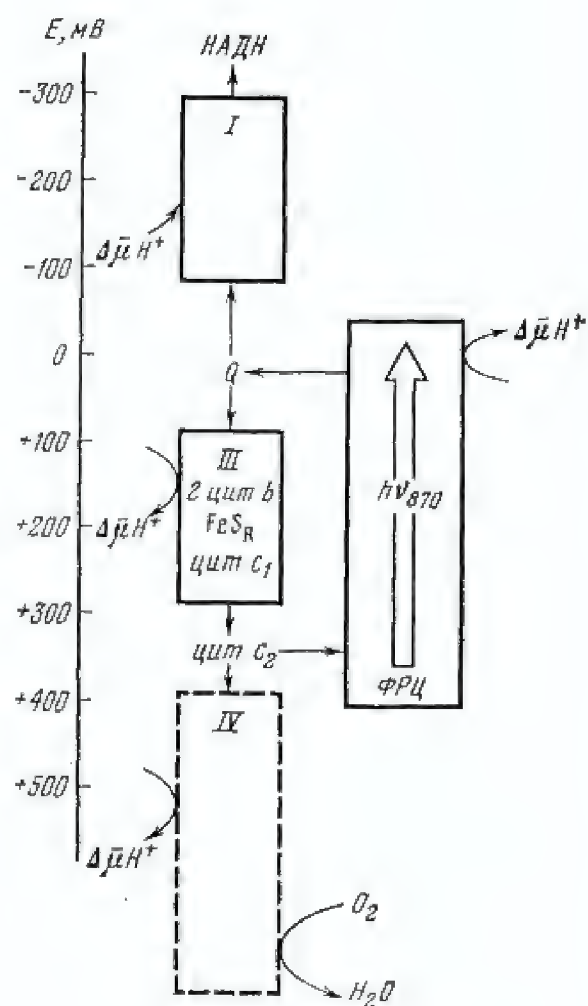


Рис. 13. Энергетический профиль транспорта электронов у несерных пурпурных бактерий

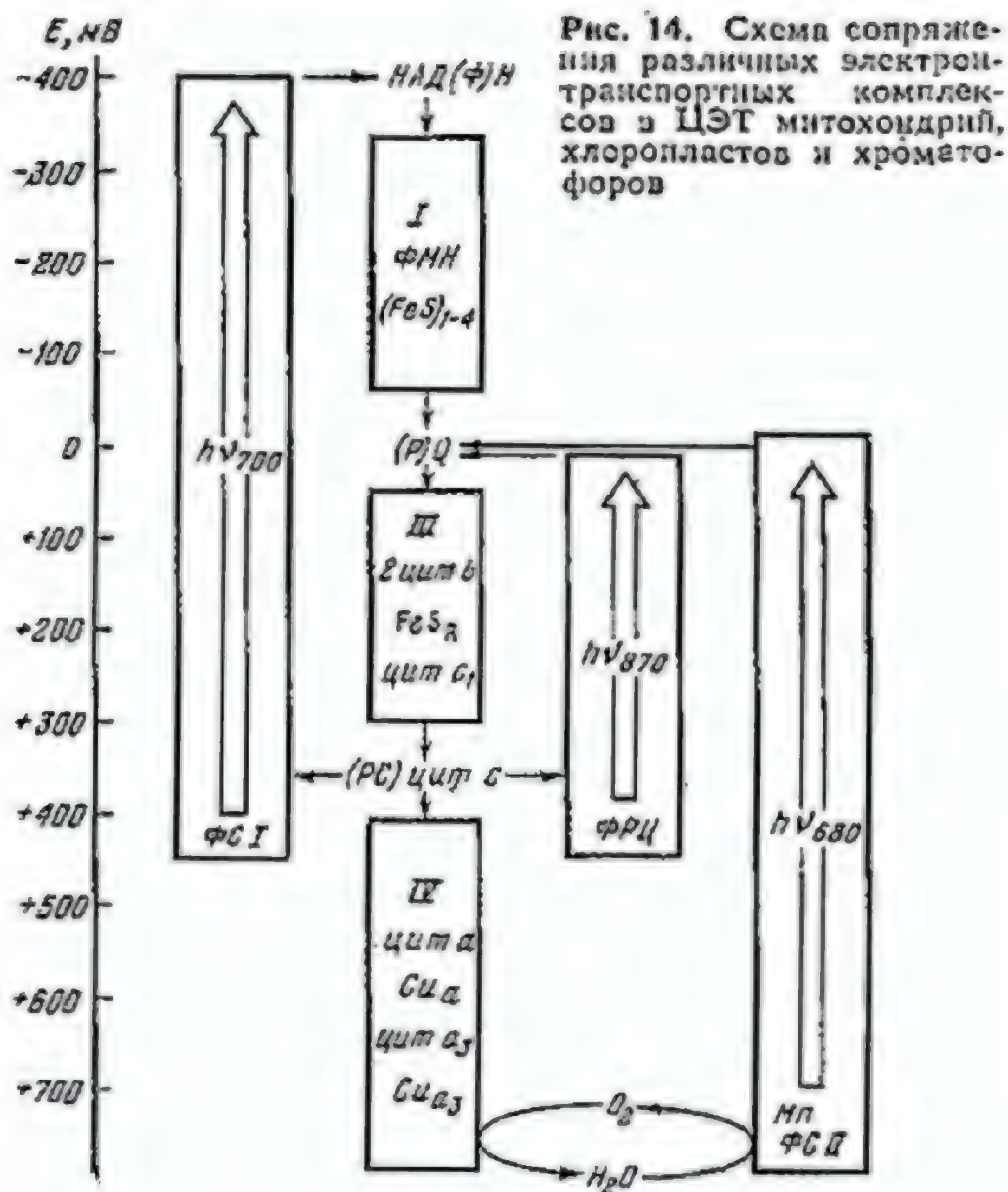


Рис. 14. Схема сопряжения различных электрон-транспортных комплексов в ЦЭТ митохондрий, хлоропластов и хроматофоров

комплексом b_6—f хлоропластов [Prince et al., 1982]. Показана способность образованных агрегатов к фотоиндуцированному восстановлению цитохромов типа *b*, чувствительного к ингибиторам. Об этом же говорит и эффект «сверхвосстановления» цитохромов *b*, индуцированного окислителями, обнаруженный у изолированных комплексов фотосинтезирующих бактерий [Gabellini et al., 1982] и высших растений [Lam, Malkin, 1982a; Hurt, Hauska, 1982].

Остальные комплексы молекул переносчиков, участвующие в преобразовании энергии, являются более специфическими и присутствуют лишь у определенных групп организмов. Универсальность комплекса III обусловлена, по-видимому, тем, что он не связан специфически с определенными видами доноров и акцепторов в отличие от терминальных комплексов.

Рассмотрим более подробно взаимодействие комплексов в различных фотосинтетических ЦЭТ.

Пурпурным фотосинтезирующим бактериям, поглощающим в дальней красной области, энергии кванта хватает только на то, чтобы для генерации $\Delta\bar{\mu}H^+$ использовать лишь третий комплекс. Использовать цитохромоксидазу им удается только в аэробных условиях (несерные пурпурные бактерии). Восстановить НАДН бактерии могут лишь за счет обратного транспорта электронов, который начинается на уровне хинонов и захватывает комплекс I [Самуилов, 1982] (см. рис. 13).

Фотосинтез у растений происходит с участием двух фотосистем, которые расположены на энергетической шкале таким образом, что при переносе электронов от фотосистемы II к фотосистеме I может быть использован комплекс III (b_6—f -комплекс). С этой точки зрения представляется естественным сходство акцепторных сторон ФРЦ бактерий фотосистемы II зеленых растений [см. Обзор: Климов, Красновский, 1982], так как в обоих случаях ФРЦ сопрягается с комплексом III — темновым генератором $\Delta\bar{\mu}H^+$. Отметим, что с рассматриваемой точки зрения должно наблюдаться определенное сходство донорной части ФРЦ пурпурных бактерий и первой фотосистемы высших растений, так как комплекс III выступает в качестве донора электронов для ФРЦ. Такое сходство действительно обнаруживается в значениях редокс-потенциалов переносчиков, находящихся на донорной стороне ФРЦ. Кроме того, у некоторых синезеленых водорослей пластоцианин в определенных условиях может заменяться на водорастворимый цитохром c_{553} [Wood, 1978; Bochner, Böger, 1978; Bochner et al., 1980].

Можно предположить, что если ЦЭТ имеет доноры и акцепторы электронов, потенциалы которых позволяют функционировать какому-либо известному темновому генератору $\Delta\bar{\mu}H^+$, то с большой вероятностью такой генератор, включающий соответствующие переносчики электронов, существует (принцип промежуточного генератора).

Редокс-потенциалы акцепторов фотосистемы I таковы, что они могли бы донировать электроны в комплекс I, аналогичный таковому в дыхательной цепи митохондрий. Это позволило бы запасать энергию в виде $\Delta\bar{\mu}H^+$ и соответственно переводить ее в биологически полезную форму АТФ. В этом случае ЦЭТ растений выглядела бы так, как она представлена на рис. 14.

Анализ рис. 14 приводит к выводу, что участие комплекса I в ЦЭТ сделало бы возможным восстановление НАД(Ф) за счет работы только фотосистемы II. Образование НАД(Ф)Н в них могло бы происходить так же, как у пурпурных бактерий, за счет обратного транспорта. Для этого был бы необходим эффективный циклический транспорт электронов в фотосистеме II. Такая ЦЭТ соответствовала бы бактериальной, но с использованием в качестве донора электронов воды. Кроме рассмотренной ситуации, возможна также обратная картина, при которой Донором электронов служит не вода, как у растений, а более

восстановленные соединения, и вместе с тем энергии кванта света хватает для того, чтобы охватить первый и третий энергопреобразующие комплексы и работать сразу на двух генераторах $\Delta\bar{\mu}H^{+}$ вместо одного. Таким объектом являются, по-видимому, зеленые серобактерии.

Следовательно, точка зрения, согласно которой минимальной функциональной единицей энергопреобразующих электронтранспортных цепей являются комплексы молекул переносчиков, способных к образованию трансмембранной разности электрохимического потенциала ионов водорода, приводит к достаточно естественной и простой картине, согласно которой в центре энергетического преобразования в ЦЭТ стоят темновые генераторы $\Delta\bar{\mu}H^{+}$-комплекс III и, возможно, комплекс I. Объединение с ними остальных энергопреобразующих комплексов и образует ЦЭТ, специфичную для каждого типа организмов.

Заключение

Выше были рассмотрены только процессы транспорта электронов при дыхании и фотосинтезе и совсем не затрагивались другие известные системы переноса электронов, такие, как система гидроксилирования, нитрогеназа, и многие другие. Подробный анализ химических свойств и строения этих систем приведен в книге Г. И. Лихтенштейна [1979], к которой мы и отсылаем читателя. Рассмотрение лишь энергопреобразующих систем транспорта электронов связано с их структурированностью, которая доказана экспериментально.

Наиболее изученным в отношении состава и структуры, а также последовательности, кинетики и термодинамики переноса электронов является ФРЦ пурпурных бактерий. По-видимому, общие принципы функционирования других фотосинтетических реакционных центров сходны с таковыми для ФРЦ пурпурных бактерий (см. гл. 9). Вместе с тем совершенно очевидно, что детали организации различных реакционных центров могут быть отличны друг от друга. Изложенное справедливо и для других комплексов, участвующих в переносе электронов.

Проведенный выше анализ переноса электронов при дыхании и фотосинтезе показывает, что, несмотря на значительный прогресс в изучении различных аспектов транспорта электронов, до настоящего времени во многом еще неясны последовательность, механизмы и кинетика переноса электронов для основных электрон-транспортных комплексов I—IV дыхательной цепи, а также комплексов ФРЦ.

Далее в книге мы рассмотрим способы взаимодействия переносчиков электронов друг с другом, кинетику переноса электронов внутри отдельных электронтранспортных комплексов, а также зависимость скорости переноса электронов от различных факторов. До последнего времени предполагалось, что перенос

электронов в биосистемах можно описать таким же образом, как и окислительно-восстановительные реакции, происходящие в растворах. Вместе с тем, как явствует из приведенного выше материала, структурной единицей переноса электронов в ЦЭТ являются определенным образом организованные электрон-транспортные комплексы. Для описания транспорта электронов в таких комплексах нами используется далее вероятностное описание [Шинкарев, Венедиктов, 1977], одной из характерных черт которого является введение состояний комплекса как целого. Предложенный формализм является достаточно общим и может быть использован для описания функционирования не только электронтранспортных, но и других мультиферментных комплексов.

Глава 2

ВЕРОЯТНОСТНАЯ МОДЕЛЬ МУЛЬТИФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА

В данной главе приведены сведения из теории вероятностей и случайных процессов, необходимые для формулировки вероятностной модели функционирования мультиферментного комплекса. Большинство примеров, приведенных для иллюстрации основных положений теории вероятностей и случайных процессов, относится к этой вероятностной модели. Выбранная нами точка зрения на мультиферментный комплекс как на совокупность взаимодействующих центров, каждый из которых может находиться в конечном числе состояний, позволяет в рамках единой кинетической схемы охватить чрезвычайно большой класс процессов, таких, как обычный ферментативный катализ, адсорбцию, окислительно-восстановительные реакции, эстафетный транспорт ионов и т. д., рассматриваемых обычно отдельно друг от друга.

2.1. Состояния комплекса как случайные события

Как известно [Гнеденко, 1965; Гихман и др., 1979], существуют два крайних случая связи между некоторой совокупностью условий G и событием A, наступление или ненаступление которого при данных условиях может быть точно установлено. В первом случае при каждом осуществлении совокупности условий G наступает событие A. Это так называемый детерминированный случай. Во втором случае при выполнении совокупности условий G событие A может произойти, а может и не произойти. Такие события, которые при известных условиях либо происходят, либо

не происходят, называются случайными. Типичным примером такого рода случайного события является выпадение «орла» или «решки» при подбрасывании монеты. В теории вероятностей, рассматриваются случайные события, для которых при большом числе испытаний доля той части случаев, когда происходит событие *A*, лишь изредка сколько-нибудь значительно уклоняется от некоторой величины. Эта величина есть вероятность данного события, служащая количественной оценкой возможности появления события *A* при выполнении совокупности условий *G*.

Будем говорить, что задан случайный эксперимент, если указана совокупность условий *G* и множество случайных событий ω_1, ω_2, … наступление которых следует наблюдать. В теории вероятностей предполагается, что рассматриваемому эксперименту поставлено в соответствие некоторое множество Ω, точки которого изображают наиболее полную информацию о результатах данного эксперимента. Множество Ω называют пространством элементарных событий, а его точки — элементарными событиями [Боровков, 1976; Гихман и др., 1979].

Приведем примеры случайных экспериментов.

1. Пусть фермент *E* катализирует образование продукта *P* из субстрата *S* согласно следующей схеме:



$$E + S \rightleftarrows ES \rightarrow E + P, \qquad (2.1)$$

где ES — фермент-субстратный комплекс.

В результате эксперимента, который состоит в наблюдении за состоянием отдельной молекулы фермента, может быть зарегистрирован либо фермент-субстратный комплекс *ES* — это одно событие, либо свободный фермент — это другое событие. Поскольку как присоединение субстрата к отдельной молекуле фермента, так и его освобождение определяются большим числом случайных факторов, то состояния, в которых находится данный фермент в рассматриваемый момент времени, представляют собой случайные события. Следовательно, пространство элементарных событий для каждой молекулы фермента состоит из двух элементов: $\Omega = \{\omega_1, \ \omega_2\}$ = (свободный фермент, фермент-субстратный комплекс}, т. е. $\Omega = \{E, ES\}$.

2. Рассмотрим окислительно-восстановительную реакцию между *A* и *D*:



$$A^+ + D^- \rightleftarrows A^- + D^+ . \qquad (2.2)$$

Пусть мы наблюдаем за состоянием отдельной молекулы *A*. Она может находиться в двух состояниях — окисленном (A^+) и восстановленном (A^-). Соответственно этому пространство элементарных событий в рассматриваемом эксперименте также состоит из двух элементов:

$\Omega = \{ A^+, A^-\}$.

3. Рассмотрим группу *Б* некоторого белка, которая может присоединять протон. Считаем, что наблюдаемыми в эксперимен-

те являются состояния этой группы. Ясно, что пространством элементарных событий в этом случае является $\Omega = \{ Б, БН \}$, где *БН* — протонированное состояние группы.

Рассмотрение этих и подобных примеров приводит к целесообразности выделения общей модели фермента (центра) *E*, который может находиться в двух состояниях — свободном (E^0) и занятом (E^1). В каждом частном случае центр может быть занят ионом, электроном, субстратом, ингибитором и т. д. (рис. 15).

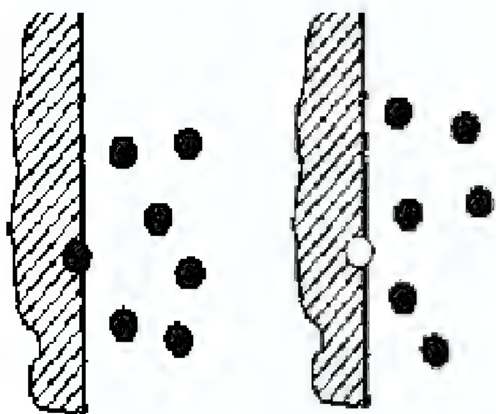


Рис. 15. Схематическое изображение перехода фермента (центра) из занятого состояния в свободное и наоборот

Черными кружками обозначены частицы, обусловливающие занятое состояние фермента (центра)

При указанном расширении понятия состояния отдельного фермента можно в рамках единой схемы охватить широкий класс моделей. Достаточно отметить, что уравнение Нернста для окислительно-восстановительных реакций, уравнение Михаэлиса-Ментен для ферментативных реакций, уравнение Ленгмюра для изотермы адсорбции, уравнение Гендерсона—Хассельбалха для кислотно-основных переходов и т. д. с рассматриваемой точки зрения являются не чем иным, как одним и тем же уравнением, описывающим некий центр, который может находиться только в двух состояниях. В первом случае это окисленная и восстановленная формы фермента, во втором — это свободный фермент и фермент, связанный с субстратом и т. д.

4. Рассмотрим комплекс двух ферментов (двух взаимодействующих центров) E_1 и E_2, каждый из которых может находиться соответственно в свободном и занятом состоянии. Здесь по-прежнему под занятым состоянием отдельного фермента можно понимать его восстановленную, протонированную и т. п. форму. Для комплекса двух ферментов пространством элементарных событий является совокупность следующих четырех событий, отличающихся друг от друга состоянием либо первого, либо второго фермента:

$$\Omega = \left\{ E_1^0 E_2^0,\ E_1^0 E_2^1,\ E_1^1 E_2^0,\ E_1^1 E_2^1 \right\}$$

Здесь, например, событие ($E_1^0 E_2^1$), означает, что первый фермент свободен, а второй фермент занят.

Совершенно аналогично может быть рассмотрен мультиферментный комплекс, состоящий из любого конечного числа ферментов, каждый из которых может находиться в нескольких, не обязательно двух, состояниях.

Событием будем называть любое подмножество *A* конечного пространства элементарных событий Ω. Таким образом, считается, что произошло событие *A*, если произошло какое-либо из

элементарных событий, принадлежащих *А,* Над случайными собы-тиями определены некоторые операции, выражаемые словами «и», «или», «не» и их комбинации [Лоэв, 1962]. Так, например, каждому событию *А* можно сопоставить противоположное событие *А* («не» Л), которое происходит только тогда, когда не происходит событие *А*. Следовательно, эти же операции могут быть определены и на ферментных формах. Ниже приведена краткая сводка основных операций над случайными событиями [Гихман и др., 1979].

Обозначение	Название	Определение
Ω	Достоверное событие	Совокупность всех элементарных событий
$A \backslash B$	Разность событий *А и В*	Событие, состоящее в том, что произойдет *А,* но не произойдет *В*
$\overline{A} = \Omega \setminus A$	Событие, противоположное к *А*	Происходит тогда, когда не происходит событие *А*
$\varnothing$	Невозможное событие	Событие, противоположное достоверному событию
$A \cap B$ (*АВ*)	Умножение (пересечение, совмещение) событий *А* и *В*	Происходит тогда и только тогда, когда происходят оба события *А* и *В*
$A \cup B$	Сумма (объединение) событий *А* и *В*	Происходит тогда, когда происходит либо событие *А,* либо *В*

В качестве иллюстрации операций над ферментными формами рассмотрим пространство элементарных событий комплекса, состоящего из двух ферментов (пример 4):

$$\Omega = \left\{E_1^0E_2^0,\ E_1^0E_2^1,\ E_1^1E_2^0,\ E_1^1E_2^1\right\} = \{\omega_1, \omega_2, \omega_3, \omega_4,\}$$

Пусть E_1 — событие, состоящее в том, что первый фермент свободен, а событие E_2^1 состоит в том, что второй фермент занят. Перечислением этих двух событий $E_1^0 \cap E_2^1 = E_1^0E_2^1$ является событие о)$_2$, состоящее в том, что первый фермент свободен, а второй фермент занят. Таким образом, состояния рассматриваемого ферментного комплекса есть не что иное, как пересечение состояний отдельных ферментов, составляющих комплекс. Заметим, что различные состояния комплекса двух ферментов несовместны, поскольку каждое из них отличается от другого состоянием либо первого, либо второго фермента. Вместе с тем объединение всех состояний комплекса есть достоверное событие. Про такие случайные события говорят, что они образуют полную группу событий [Гнеденко, 1965]. Коротко определение полной группы событий можно записать следующим образом:

$$\bigcup_i \omega_i = \Omega, \quad \omega_i \cap \omega_j = \varnothing \quad (i \neq j)(2.3)$$

лено как сумма несовместных событий из полной группы, иными словами, может быть выражено через ω_i. Так, например, события $E_1^0, E_2^1,\ E_1^0 \backslash E_2^1,\ E_1^0 \cup E_2^1$ могут быть следующим образом выраже-

ны через события полной группы:

$$E_1^0 = E_1^0E_2^0 + E_1^0E_2^1; \quad E_2^1 = E_1^0E_2^1 + E_1^0E_2^1;$$
$$E_1^0/E_2^1 = E_1^0E_2^0; \qquad E_1^0 \cup E_2^1 = E_1^0E_2^0 + E_1^0E_2^1 + E_1^0E_2^1; \tag{2.4}$$

на котором события E_1^1 и E_2^1 указаны соответственно горизонтальной и вертикальной штриховкой.

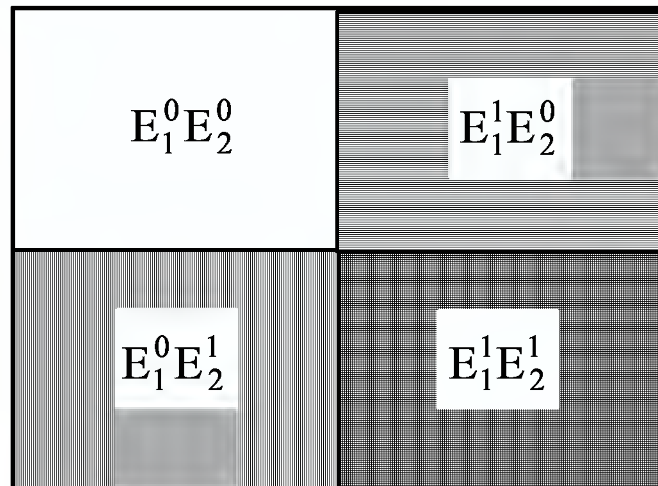


Рис. 16. Схематическое изображение различных состояний комплекса двух ферментов (центров)

Горизонтальной и вертикальной штриховкой указаны состояния E_1^1 и E_2^1

Таким образом, для каждого мультиферментного комплекса совокупность всех его состояний, отличающихся друг от друга состояниями отдельных ферментов, является полной группой событий.

2.2. Вероятность состояний комплекса

Рассмотрим случайный эксперимент с конечным числом различных исходов $\omega_1, \omega_2, \ldots, \omega_n$:

$\Omega = \{\omega_1, \omega_2, \ldots, \omega_n\}$.

На пространстве элементарных событий Ω определим вероятности элементарных событий $p_i = P\{\omega_i\}$ таким образом, чтобы

$$\sum_{\omega_i \subset \Omega} P(\omega_i) = \sum_{i=1} p_i = 1, \quad p_i \geq 0. \tag{2.5}$$

Здесь по всем элементарным событиям, составляющим Ω. Вероятностью события A ($A \subset \Omega$) в этом случае называют число

$$P(A) = \sum_{\omega_i \subset A} p_i, \tag{2.6}$$

где распространяется по всем элементарным событиям, составляющим событие A. Следовательно, если заданы вероятности элементарных событий, то можно определить вероятность любого сложного события, составленного из них.

В случае мультиферментного комплекса элементарными событиями являются его состояния, вероятность которых необхо-

димо определить. В частности, для комплекса двух ферментов, каждый из которых может находиться в двух состояниях — свободном и занятом, пространство элементарных событий имеет вид $\Omega=\{E_1^0E_2^0,\ E_1^0E_2^1,\ E_1^1E_2^0,\ E_1^1E_2^1\}=\{\omega_1,\ \omega_2,\ \omega_3,\ \omega_4\}$. Вероятность любого события может быть выражена через вероятности $p_i = P\{\omega_i\}$ элементарных событий. Например, вероятность того, что первый фермент занят, может быть записана следующим образом:

$$P(E_1^1)=P(E_1^1E_2^0+E_1^1E_2^1)=P(E_1^1E_2^0)+P(E_1^1E_2^1)=p_3+p_4,$$

Как известно [Боровков, 1976; Гихман и др., 1979], вероятность обладает следующими свойствами:

1. Вероятность достоверного события равна 1, а вероятность невозможного события равна 0: $P(\Omega) = 1$, $P(0) = 0$.

2. Вероятность наступления хотя бы одного из двух событий A и B равна сумме вероятностей этих событий $[P(A)+P(B)]$ минус вероятность совмещения этих событий: $P(A\bigcup B) = P(A)+P(B) — P(A\bigcap B)$. Для несовместных событий вероятность их объединения равна сумме вероятностей этих событий: $P(A+B)=P(A)+P(B)$.

3. Если из наступления события A следует наступление события B, то вероятность события A не превосходит вероятность события B: Если $A\subset B$, то $P(A) \le P(B)$.

4. Для любого события A его вероятность неотрицательна и не превышает единицы: $0\le P(A) \le 1$.

В качестве иллюстрации свойств вероятности рассмотрим фермент, который может находиться только в двух состояниях — свободном и занятом. Поскольку свободное и занятое состояния являются дополнительными событиями, то имеют место следующие соотношения: $E^1\bigcap E^0=\varnothing$, $E^1\bigcup E^0= E^1+E^0 = \Omega$ В силу свойств вероятности 1° и 2° имеем $P(\Omega)=P(E^1+E^0)=P(E^1)+P(E^0)=1$. Таким образом, всегда вероятность занятого состояния фермента равна единице минус вероятность свободного состояния фермента: $P(E^1) = 1—P(E^0)$.

2.3. Условная вероятность. Независимость ферментов, составляющих комплекс

В ряде случаев приходится рассматривать вероятность случайного события A, если известно, что уже произошло некоторое другое событие B, имеющее положительную вероятность - так называемую условную вероятность [Гнеденко, 1965; Боровков, 1976; Гихман и др., 1979]. Напомним определение условной вероятности.

Условной вероятностью события A, при условии, что произошло событие $B[P(B)>0]$, называют следующую величину (рис.17):

$$P_B(A)=P(A/B)=\frac{P(A\bigcap B)}{P(B)} \tag{2.7}$$

Условная вероятность, как несложно проверить непосредственно, обладает всеми свойствами 1° — 4° обычной вероятности. Из определения (2.7) условной вероятности сразу следует соотношение

$$P(AB)=P(A)P(B/A)=P(B)P(A/B), \tag{2.8}$$

которое мы будем называть формулой умножения.

В ряде случаев для нахождения того или иного сложного события A бывает удобно рассмотреть соответствующим образом выбранные вспомогательные события H_i если введение этих событий упрощает задачу и позволяет определить условные вероятности $P(A/H_i)$. Пусть события H_i образуют полную группу событий, т. е. $\bigcup_i H_i = \Omega$ $H_i \bigcap H_j = \varnothing$, $i \neq j$. Тогда для любого события A ($A \subset \Omega$) имеет место равенство

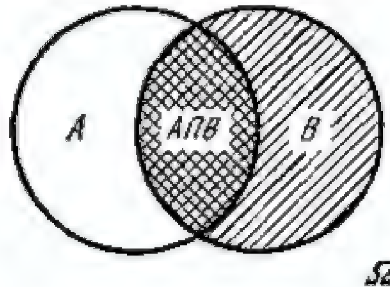


Рис. 17. К определению условной вероятности

$$P(A) = \sum_{i=1}^{n} P(AH_i) = \sum_{i=1}^{n} P(AH_i)P(A/H_i) \tag{2.9}$$

Формулу (2.9) обычно называют формулой полных вероятностей.

Рассмотрим в качестве примера комплекс двух ферментов. Пусть нас интересует вероятность того, что первый фермент занят. Событие, состоящее в том, что первый фермент занят, складывается из двух несовместных событий, первое из которых состоит в том, что оба фермента заняты, а второе — в том, что первый фермент, занят, а второй — свободен: $E_1^1 = E_1^1E_2^0 + E_1^1E_2^1$. Соответственно этому вероятность того, что первый фермент занят, может быть записана следующим образом: $P(E_1^1) = P(E_1^1E_2^0) + P(E_1^1E_2^1)$. Заменяя каждое слагаемое в этой сумме по формуле умножения (2.8), получим

$$P(E_1^1) = P(E_1^1/E_2^0)P(E_2^0) + P(E_1^1/E_2^1)P(E_2^1). \tag{2.10}$$

Аналогичное соотношение справедливо для вероятности застать второй фермент E занятом состоянии $P(E_2^1) = P(E_2^1/E_1^0)P(E_1^0) + P(E_2^1/E_1^1)P(E_1^1)$. Полученные соотношения представляют собой запись формулы полных вероятностей для комплекса двух ферментов и будут использованы нами в дальнейшем при анализе явлений взаимодействия ферментов, входящих в комплекс. Поскольку в общем случае вероятность того, что первый фермент занят, зависит от состояния соседнего фермента, то $P(E_1^1/E_2^0) \neq P(E_1^1/E_2^1)$.

Одним из центральных понятий теории вероятностей является понятие независимости случайных событий.

Может случиться так, что вероятность интересующего нас события A не зависит от того, осуществилось или нет некоторое другое событие положительной вероятности. В таком случае говорят что первое событие независимо от второго. На языке условных вероятностей данный факт может быть записан следующим образом: $P(A/B)=P(A)$. Поскольку условная вероятность определяется соотношении $P(A/B) =P(AB)/P(B)$, то условие независимости событий A и B равносильно выполнению следующего равенства:

$$P(AB)=P(A)P(B), \qquad (2.11)$$

которое обычно и принимается за определение независимости двух событий. Таким образом, два случайных события A и B называются независимыми, если вероятность их пересечения равна произведению их вероятностей. Случайные события B_1 $B_2,\ldots, B_n$ называются независимыми в совокупности [Боровков, 1976; Гихман и др., 1979], если ля любого k, $1\le k\le n$ и для любого набора индексов $i_1, i_2, \ldots, i_k$, $1\le i_1< i_2<\ldots< i_k\le n$ выполняется равенство

$$P\left(\bigcap_{r=1}^{k} B_{i_r}\right)=\prod_{r=1}^{k} P\left(B_{i_r}\right) \qquad (2.12)$$

В частности, если события $B_1,.., B_n$ независимы в совокупности, то любые два события B_i и B_j $(i\neq j)$ независимы. Обратное утверждение неверно.

В отношении независимости событий принципиальным является следующий факт, с которым мы столкнемся далее. Если события B_{i_r} рассматривать как относящиеся к отдельным ферментам мультиферментного комплекса, то согласно выражению (2.12) вероятность состояния комплекса определяется вероятностями состояний составляющих его ферментов, если эти ферменты статистически независимы. В противном случае, при наличии взаимодействий, обусловливающих статистическую зависимость состояний отдельных ферментов, по вероятностям состояний отдельных ферментов, вообще говоря, уже нельзя определить вероятность состояния всего мультиферментного комплекса.

Определение независимости случайных событий (2.11) приводит к следующему, согласующемуся с интуицией, свойству независимых событий. Если события A и B независимы, то A и $\overline{B}$, $\overline{A}$ и B, $\overline{A}$ и $\overline{B}$ — независимы.

Рассмотрим в качестве примера комплекс двух ферментов. Пусть каждый фермент находится в свободном и занятом состоянии независимо один от другого. В этом случае вероятность состояния комплекса двух ферментов равна произведению веро-

ятностей соответствующих состояний отдельных ферментов, составляющих комплекс:

$$P(E_1^0 E_2^0) = P(E_1^0)P(E_2^0) \quad P(E_1^0 E_2^1) = P(E_1^0)P(E_2^1)$$
$$P(E_1^1 E_2^0) = P(E_1^1)P(E_2^0) \quad P(E_1^1 E_2^1) = P(E_1^1)P(E_2^1) \qquad (213)$$

случайных событий позволяет существенно уменьшить число определяемых величин. Действительно, в общем случае, когда состояния комплекса, состоящего из n компонентов, каждый из которых может находиться в двух состояниях, зависимы, нам необходимо определить 2^n — 1 вероятностей состояний комплекса. В случае же когда компоненты комплекса независимы, необходимо определить всего n вероятностей состояний отдельных компонентов, составляющих комплекс, исходя из которых могут быть определены вероятности всех 2^n состояний комплекса.

2.4. Случайные величины на пространстве ферментных форм

До сих пор мы рассматривали случайные события и их вероятности. Часто, однако, случайные события определяются не непосредственно, а с помощью тех или иных функциональных ограничений. В связи с этим в теории вероятностей рассматриваются случайные величины, т. е. функции, определенные на пространстве элементарных событий и принимающие в зависимости от результатов эксперимента то или иное численное значение.

В зависимости от типа множества значений, которые может принимать случайная величина, обычно выделяют два наиболее важных типа случайных величин — дискретный и непрерывный. Случайная величина дискретного типа может принимать лишь изолированные значения в конечном или счетном числе, а случайная величина непрерывного типа — все значения некоторого интервала.

Рассмотрим несколько примеров случайных величин, определенных на состояниях мультиферментного комплекса.

1. Пусть имеется фермент, который может находиться всего в двух состояниях — свободном и занятом. Случайной величиной является, например, индикатор χ события, состоящего в том, что фермент занят:

$$\chi = \begin{cases} 1, \text{ если фермент занят} \\ 0, \text{ если фермент свободен} \end{cases}$$

Случайной величиной является также время τ, в течение которого фермент находится в занятом состоянии. В отличие от случайной величины χ, которая могла принимать всего два значения, случайная величина τ может принимать все значения промежутка $[0, \infty)$.

2. Рассмотрим комплекс n ферментов, каждый из которых может находиться в свободном и занятом состояниях. Случайной величиной является, например, общее число занятых ферментов η: η= k, если k ферментов занято. Эта случайная величина может быть следующим образом выражена через случайные величины χ_i введенные в первом примере:

$$\eta = \sum_{i=1}^{n} \chi_i \tag{2.14}$$

ных состояниях S_1, S_2, ..., S_m. Если каждое состояние комплекса имеет свой собственный спектр поглощения $\varepsilon_r = \varepsilon_r(\lambda)$, где λ — длина волны света, то случайная величина ε: $\varepsilon_r = \varepsilon_r$, если комплекс находится в состоянии S_r, определяет спектр поглощения комплекса ферментов.

Для задания случайной величины необходимо знать не только те значения, которые может принимать эта случайная величина, но и вероятность этих значений. Для того чтобы задавать их, в теорию вероятностей вводят понятие функции распределения случайной величины [Гнеденко, 1965].

Пусть ξ— случайная величина и x — произвольное число. Вероятность события $A = \{\omega: \xi(\omega) < x\}$, состоящего в том, что случайная величина ξ примет значение, меньшее, чем x, называется функцией распределения случайной величины ξ: $F(x)= P(A) = =P\{\omega: \xi(\omega) < x\}$

Свойства функций распределения, естественно, отражают соответствующие свойства вероятностей: 1) если $x \le y$, то $F(x) \le F(y)$; 2) $F(-\infty)=0$, $F(\infty)=1$, $0 \le F(x) \le 1$. Часто вместо указания функции распределения случайной величины бывает достаточно указания таких ее числовых характеристик, как среднее и дисперсия.

Математическим ожиданием (средним) случайной величины |, имеющей функцию распределения $P(x)$, называется величина

Рассмотрим примеры вычисления среднего случайных величин.

$$M\xi = \int_{-\infty}^{\infty} x dF(x) = \begin{cases} \sum_{i=1}^{n} x_i P(\xi = x_i) = \sum_{i=1}^{n} x_i p_i & \text{для дискретной случайной величины принимающей значения } x_i \text{ с вероятностью } p_i. \\ \int_{-\infty}^{\infty} x p(x) dx = & \text{для непрерывной случайной величины, имеющей плотность распределения } p(x). \end{cases}$$

4. Среднее значение случайной величины χ (см. пример 1), принимающей значение 1, если фермент занят (с вероятностью p), и значение 0, если фермент свободен (с вероятностью $1 - p$), равно исходя из определения $M\chi = 1\, p + 0\, (1 - p) = p$. Таким образом, среднее значение индикатора события равно вероятности этого события.

5. Рассмотрим комплекс двух ферментов, каждый из которых

может находиться в двух состояниях — свободном и занятом. Найдем среднее число занятых ферментов. Имеем

$$M\eta = \sum_{k=0}^{2} kP(\eta = k) = 0 \cdot P(E_1^0 E_2^0) +$$

$$+1 \cdot [P(E_1^0 E_2^1) + P(E_1^1 E_2^0)] + 2 \cdot P(E_1^1 E_2^1) = P(E_1^1) + P(E_2^1)$$

ся равенством (2.14) и предыдущим примером.

Перечислим основные свойства математического ожидания [подробнее см.: Боровков, 1976; Гихман и др., 1979]. Ниже предполагается, что $M\xi$, $M\eta < \infty$. В силу определения математического ожидания его свойства совпадают с таковыми для сумм (интегралов).

1. Свойство аддитивности $M(\xi+\eta) = M\xi+M\eta$, т. е. математическое ожидание суммы случайных величин равно сумме математических ожиданий этих случайных величин.

2. Свойство однородности $M(a\xi)=aM(\xi)$, (a — число), т. е. числовой множитель можно выносить из-под знака математического ожидания.

3. Мультипликативное свойство для независимых случайных величин. Если случайные величины ξ и η независимы, то математическое ожидание их произведения равно произведению их математических ожиданий: $M(\xi\eta)$ — $M\xi M\eta$. Обратное утверждение, вообще говоря, неверно [Боровков, 1976].

В качестве примера использования свойств математического ожидания вычислим среднее число занятых ферментов (см. пример 2). Имеем $M\,\eta = \mathrm{M}\left(\sum_{i=1}^{n} \chi_i\right) = \sum_{i=1}^{n} \mathrm{M}\,\chi_i = \sum_{i=1}^{n} p_i$. Здесь использовано равенство (2.14) и свойство аддитивности математического ожидания. Заметим, что полученное равенство справедливо и в случае, когда ферменты, составляющие комплекс, зависимы.

2.5. Переходы между ферментными формами как марковский процесс

До сих пор, говоря о случайных событиях и их вероятностях, мы не рассматривали их зависимость от времени. Так, мы рассматривали фермент, который может находиться в двух состояниях. При этом мы намеренно не упомянули о том, что случайные события, состоящие в том, что фермент свободен и занят, являются следствием взаимодействия с субстратом, причем этот процесс развивается во времени. Очевидно, что вероятности указанных событий также должны зависеть от времени. Таким образом, необходимо рассмотреть не просто случайные величины, а случайные величины, зависящие от параметра — времени.

Ниже приведены необходимые сведения о случайных процессах. Для более полного ознакомления с теорией случайных процессов, необходимо обращение к соответствующей литературе [Бартлетт, 1958; Карлин, 1971; Вентцель, 1975; Гихман, Скороход, 1977; Розанов, 1979]. Наряду с термином «случайный» процесс в литературе часто используют также названия «вероятностный», или «стохастический», процесс.

Случайным процессом называется семейство случайных величин, зависящих от параметра t, пробегающего некоторое множество T. Этот параметр мы будем писать либо в виде нижнего индекса, например ξ_t, $t \in T$, либо в скобках, например $\xi(t)$. Случайные процессы удобно классифицировать в зависимости от того, непрерывное или дискретное множество значений могут пробегать случайная величина ξ_t и ее параметр t, интерпретируемый обычно как время. В соответствии с этим мы получим следующие четыре основных вида процессов [Баруча-Рид, 1969].

1. Процесс с конечным счетным числом состояний и дискретным временем. В этом случае можно считать, что «время» t пробегает последовательность натуральных чисел и поэтому процесс сводится к последовательности случайных величин ξ_n (вообще говоря, зависимых), могущих принимать лишь дискретное множество значений. Типичным примером такого случайного процесса является случайное блуждание частицы по целочисленным точкам, которая в дискретные, равноотстоящие друг от друга моменты времени с вероятностью p перемещается влево, а с вероятностью $1—p$ — вправо.

2. Процесс с непрерывным множеством значений и дискретным временем. Этот случай отличается от предыдущего лишь тем, что случайная величина может принимать все значения из некоторого интервала.

3. Процесс с конечным (счетным) числом значений и непрерывным временем. Этот тип случайных процессов будет рассмотрен нами в дальнейшем наиболее подробно, поскольку он при достаточной элементарности находит себе естественное применение для описания функционирования систем, могущих находиться лишь в конечном (счетном) числе состояний.

4. Непрерывный процесс с непрерывным временем. В этом случае как ξ_t так и параметр t могут принимать континуум значений.

Помимо классификации случайных процессов по характеру фазового пространства и типа параметра t, существуют и другие классификации случайных процессов. Ниже рассмотрены так называемые марковские процессы, с помощью которых естественно описывается большое количество содержательных задач. Наиболее важной чертой марковского процесса является эволюционный характер его развития: состояние процесса в настоящем полностью определяет его вероятностное поведение в будущем.

Предположим, что мультиферментный комплекс может находиться в состояниях $S_1, S_2, \ldots, S_n$ (1, 2, . . . , n). Напомним, что под состоянием мультиферментного комплекса мы понимаем пересечение состояний отдельных ферментов, составляющих комплекс, причем природа состояний отдельных ферментов может быть произвольной. Находясь изначально, например, в состоянии S_1, комплекс какое-то случайное время находится в этом состоянии, а затем «мгновенно» переходит в одно из состояний S_2, ..., S_n. Этот переход осуществляется случайным образом в том смысле, что неизвестно точно, в какое состояние перейдет комплекс, а известно лишь с какими вероятностями осуществляется тот или иной переход. В новом состоянии комплекс опять находится какое-то случайное время, а затем опять осуществляется перескок в какое-либо другое состояние и т. д. Введем обозначение $\xi_t = k$, если комплекс находится в состоянии k в момент времени t. Центральным для описания марковских процессов является понятие переходной вероятности $P_{ik}(s,t)$, которая определяется следующим образом:

$$P_{ik}(s,t) \equiv P(\xi_t = k/\xi_s = i) = \frac{P(\xi_t = k, \xi_s = i)}{P(\xi_s = i)} \tag{2.15}$$

Величина $P_{ik}(s,t)$ есть условная вероятность того, что комплекс в момент времени t находится в состоянии k, при условии, что в момент времени s комплекс был в состоянии i. Иными словами, $P_{ik}(s,t)$ трактуется как вероятность перехода комплекса из i-го состояния в k-е за время t-s.

Будем предполагать, что если в данный момент времени u мультиферментный комплекс находится в состоянии j, то в последующий момент времени t комплекс будет находиться в состоянии k, с некоторой вероятностью $P_{ik}(u,t)$ независимо от поведения комплекса до указанного момента времени u. Иными словами, мы предполагаем, что описывающий поведение комплекса случайный процесс ξ_t является марковским случайным процессом с дискретным числом состояний и непрерывным временем [Шинкарев, Венедиктов, 1977].

Определение независимости «будущего» от «прошлого» при известном «настоящем» может быть сформулировано следующим образом. Рассмотрим произвольные моменты времени s, u, t, такие, что $s<u<t$ (рис. 18). Тогда условная вероятность того, что комплекс в момент времени t находится в состоянии k при условии, что в моменты времени u и s комплекс находился соответственно в состояниях j и i, равна условной вероятности того, что в момент времени t комплекс находится в состоянии k при условии, что в момент времени u комплекс находился в состоянии j:

$$P(\xi_t = k/\xi_u = j, \xi_s = i) = P(\xi_t = k/\xi_u = j) \tag{2.16}$$

Эту формулу можно прочесть так: если точно известно состояние

комплекса в настоящий момент времени *u*, то будущее состояние комплекса (при *t*) не зависит от его прошлого состояния (при *s*), или, что то же самое, для определения будущего состояния процесса достаточно знать состояние комплекса только в настоящий момент времени *u*.

Важность переходных вероятностей определяется тем, что они позволяют определить вероятности вида

$$P(\xi_t = k, \xi_u = j, \xi_s = i), \qquad (2.17)$$

если только известно начальное состояние процесса. Действительно, применяя последовательно формулу умножения (2.8), получим

$$P(\xi_t = k, \xi_u = j, \xi_s = i) =$$

$$P(\xi_t = k / \xi_u = j, \xi_s = i) \cdot P(\xi_u = j / \xi_s = i) \cdot P(\xi_s = i)$$

Воспользовавшись теперь определением марковского процесса, заменим первый сомножитель согласно формуле (2.16). Имеем: $P(\xi_t = k, \xi_u = j, \xi_s = i) = p_i(s) P_{ij}(s,u) P_{jk}(u,t)$, где введено обозначение $p_i(s) = P(\xi_s = i)$.

Для переходных вероятностей марковского случайного процесса справедлива следующая важная формула, которую обычно называют уравнением Колмогорова — Чепмена:

$$P_{ik}(s,t) = \sum_{j=1}^{n} P_{ij}(s,u) P_{jk}(u,t), \ (s<u<t). \qquad (2.18)$$

Смысл соотношения (2.18) следующий (рис. 18). Для того чтобы перейти из состояния *i* в состояние *k*, случайный процесс в промежуточный момент времени *u* должен принять некоторое значение *j*, а затем перейти из этого состояния в состояние *k*. Эта

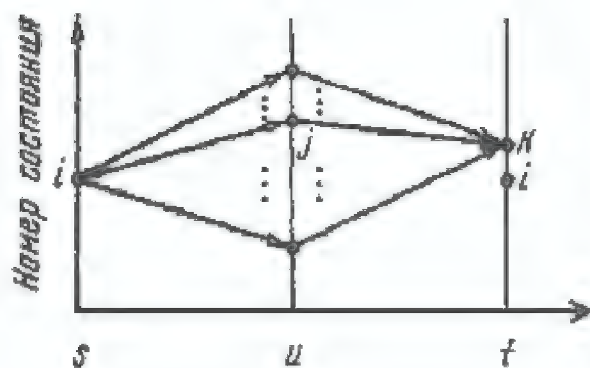


Рис. 18. К определению марковского процесса

формула есть не что иное, как формула полных вероятностей, записанная с учетом марковского свойства независимости будущего от прошлого.

Читатель без труда отметит, что формула Колмогорова-Чепмена представляет собой не что иное, как формула умножения матриц

$$P(s, t) = P(s, u) P(u, t), \qquad (2.19)$$

где $P(s, t) = \{P_{ik}(s, t)\}_{i,k=1,\dots,n}$

2.6. Уравнения Колмогорова для переходных вероятностей

При естественных предположениях относительно характера изменения переходных вероятностей на малых временах справедливы дифференциальные уравнения, которые позволяют конструктивно определить эти переходные вероятности.

Предположим, что существует предел

$$\lim_{\Delta t \to 0} \frac{P_{jk}(t, t+\Delta t) - \delta_{\mathrm{jk}}}{\Delta t} = a_{jk}(t) \qquad (2.20)$$

где $\delta_{ik} = 0$, если $j \neq k$ и $\delta_{ik} = 1$, если $j = k$.

Смысл введенных величин a_{jk} ($j \neq k$) состоит в том, что они представляют собой производные переходных вероятностей в точке t. Соответственно этому вероятность того, что комплекс, находившийся в момент времени t в состоянии j, за время Δt перейдет из него в состояние k есть ($j \neq k$)

$$P_{jk}(t, t+\Delta t) = a_{jk}(t)\Delta t + o(\Delta t) \qquad (2.21)$$

Символ $o(\Delta t)$ означает, что $\lim\limits_{\Delta t \to 0} \frac{o(\Delta t)}{\Delta t} = 0$. Величины $a_{jk}(t)$ обычно называют плотностями вероятностей перехода из j-го состояния комплекса в k-е. В силу определения (2.20) величины $a_{jk}(t)$ ($j \neq k$) неотрицательны, причем случай равенства нулю не исключается.

Величину $a_{jk}(t)$ можно выразить через плотности вероятностей перехода. Действительно, поскольку с вероятностью 1 за время Δt комплекс либо останется в исходном k-м состоянии, либо перейдет из него в одно из $(n—1)$ оставшихся состояний, справедливо равенство

$$P_{kk}(t, t+\Delta t) + \sum_{j \neq k} P_{kj}(t, t+\Delta t) = 1 \qquad (2.22)$$

Перенося $P_{kk}(t, t+\Delta t)$ в правую часть равенства, деля обе частя равенства на Δt, устремляя Δt к нулю и пользуясь (2.20), получим

$$\sum_{j \neq k} a_{jk}(t) = -a_{kk}(t) \qquad (2.23)$$

В связи с полученной формулой уместно отметить смысл величины $a_{kk}(t)$. Так как $P_{kk}(t, t+\Delta t)$ — вероятность остаться через время Δt в состоянии k, то вероятность противоположного события, состоящего в том, что в течение промежутка времени (t, $t+\Delta t$) произойдет переход, равна

$$1 - P_{kk}(t, t+\Delta t) = -a_{kk}\Delta t + o(\Delta t) \qquad (2.24)$$

При выполнении условия (2.20), исходя из уравнения Колмогорова-Чепмена (2.18), можно получить следующую систему дифференциальных уравнений для переходных вероятностей

(уравнения Колмогорова):

$$\frac{dP_{ik}(s,t)}{dt} = \sum_{j=1}^{n} P_{ij}(s,t)a_{jk}(t) \quad (i,\, k = 1,2,\ldots,n). \tag{2.25}$$

При фиксированном i данная система уравнений представляет собой систему линейных обыкновенных дифференциальных уравнений, которая легко может быть решена в общем случае при соответствующих начальных условиях. Справедливость этих уравнений может быть доказана, например, следующим образом. По формуле Колмогорова — Чепмена (2.18) для переходных вероятностей имеем

$$P_{ik}(s,t+\Delta t) = \sum_{j\neq k}^{n} P_{ij}(s,t)P_{jk}(t,t+\Delta t) + P_{ik}(s,t)P_{kk}(t,t+\Delta t) \tag{2.26}$$

Вычитая из обеих сторон этого равенства $P_{ik}(s,t)$, деля обе части соотношения на Δt, переходя к пределу $\Delta t \to 0$ и учитывая формулу (2.20), получим уравнения (2.25).

В уравнениях (2.25) i и s — параметры, которые входят только

$$P_{ik}(s,t) = \begin{cases} 1, \text{ если } k = i \\ 0, \text{ если } k \neq i \end{cases} \tag{2.27}$$

Система уравнений (2.25) однозначно определяет переходные вероятности $P_{ik}(s,t)$, удовлетворяющие формуле (2.27), причем эти вероятности удовлетворяют уравнению Колмогорова — Чепмена (2.18).

2.7. Уравнения, описывающие поведение мультиферментного комплекса

Если в начальный момент времени t=0 комплекс находится в данном состоянии i, то вероятность застать его в момент времени t, t>0 в состоянии k равна $P_{ik}(0, t)$. Можно, однако, считать, что в начальный момент времени известно не состояние комплекса, а лишь начальные вероятности его различных состояний. Этот более общий случай сводится к исходному случаю, когда комплекс с вероятностью, равной единице, находится в данном состоянии.

Пусть $p_k(t) = P(\xi_t = k)$ есть вероятность того, что комплекс находится в состоянии k в момент времени t. Если известно начальное распределение вероятностей $p_i(s)$, i = 1, 2, . . . , n, то исходя из формулы полных вероятностей (2.9) можно написать

$$p_k(t) = \sum_{i=1}^{n} p_i(s)P_{ik}(s,t), \quad (k = 1,2,\ldots,n) \tag{2.28}$$

Как следует из написанной формулы, эта вероятность зависит как от t, так и от начальных данных $p_i(t)$.

Для того чтобы получить систему дифференциальных уравнений относительно безусловных вероятностей застать комплекс в том или ином состоянии, продифференцируем по t равенство (2.28), подставив вместо производных переходных вероятностей их значения, даваемые уравнениями Колмогорова (2.25). Воспользовавшись в полученном таким образом соотношении равенством (2.28), получим

$$\frac{dp_k(t)}{dt} = \sum_{j=1}^{n} p_j(t) a_{jk}(t) \qquad (k = 1, 2, \ldots, n). \qquad (2.29)$$

В этих уравнениях величины $-a_{kk}$ равны в силу выражения (2.23) сумме величин плотностей перехода из k-го состояния в j-е:

$$-a_{kk}(t) = \sum_{j \neq k} a_{kj}(t) \qquad (2.30)$$

С учетом этого систему дифференциальных уравнений (2.29) можно записать в следующем эквивалентном виде:

$$\frac{dp_k(t)}{dt} = \sum_{j=1}^{n} p_j(t) a_{jk}(t) - p_k(t) a_{kj}(t) \qquad (k = 1, 2, \ldots, n). \qquad (2.31)$$

В полученной системе дифференциальных уравнений опущено требование $j \neq k$, так как добавление и вычитание слагаемого $p_k(t) a_{kk}(t)$ очевидным образом ничего не меняет в выражении для $dp_k(t)/dt$.

Отметим, что систему уравнений для безусловных вероятностей застать комплекс в том или ином состоянии можно получить и несколько иным по форме способом, воспользовавшись асимптотическим выражением (2.21):

$$P_{jk}(t, t + \Delta t) = \delta_{jk} + a_{jk}(t)\Delta t + o(\Delta t). \qquad (2.32)$$

Действительно, исходя из формулы (2.28) можно записать

$$P_k(t, t + \Delta t) = \sum_{j \neq k} p_j P_{kj}(t, t + \Delta t) + p_k P_{kk}(t, t + \Delta t) \cdot \qquad (2\text{-}33)$$

Вычитая из обеих частей равенства $p_k(t)$, деля обе части равенства на Δt и устремляя Δt к нулю, с учетом равенства (2.32) получим выражение (2.29).

2.8. Однородность процесса во времени

Цепь Маркова называется однородной, если переходные вероятности $P_{ij}(t, t + \Delta t)$ зависят лишь от величины промежутка. времени Δt, но не от того, где начался этот промежуток [Гихман

и др., 1979]:

$$\widetilde{P}_{ij}(t,t+\Delta t)=\widetilde{P}_{ij}(0,\Delta t)\equiv P_{ij}(\Delta t). \tag{2.34}$$

Таким образом, переходные вероятности для однородной цепи Маркова зависят лишь от одного параметра.

Формула Колмогорова—Чепмена для однородной цепи Маркова принимает следующий более простой вид:

$$P_{ik}(t+\mathrm{s})=\sum_{j=1}^{n}P_{ij}(t)P_{jk}(\mathrm{s})\cdot \tag{2.35}$$

Соотношение (2.35) представляет собой не что иное, как формулу умножения матриц

$$\mathbf{P}(t+\mathrm{s})=\mathbf{P}(t)\mathbf{P}(\mathrm{s}) \tag{2.36}$$

где $\mathbf{P}(t)=\{P_{ij}(t)\}_{i,j=1,\ldots,n}$

Отметим, что из соотношения (2.35) вытекает, что **P**(0)=**E**, где **E** — единичная матрица. С учетом изложенного выражение (2.20) можно переписать следующим образом:

$$\lim_{\Delta t\to 0}\frac{\mathbf{P}(\Delta t)-\mathbf{E}}{\Delta t}=\mathbf{A} \tag{2.37}$$

Исходя из уравнения Колмогорова—Чепмена (2.36) можно записать

$$\frac{\mathbf{P}(t+\Delta t)-\mathbf{P}(t)}{\Delta t}=\mathbf{P}(t)\frac{[\mathbf{P}(\Delta t)-\mathbf{E}]}{\Delta t}$$

Устремляя Δt к нулю и учитывая формулу (2.37), получим дифференциальное уравнение для матрицы переходных вероятностей:

$$\frac{d\mathbf{P}(t)}{dt}=\mathbf{P}(t)\mathbf{A},\qquad \mathbf{P}(0)=\mathrm{E}\cdot \tag{2.38}$$

Как известно из теории дифференциальных уравнений [Еругин, 1979], решением уравнения (2.38) является матрица

$$\mathbf{P}(t)=\mathrm{e}^{\mathbf{A}t}\ , \tag{2.39}$$

где

$$\mathrm{e}^{\mathbf{A}t}=\sum_{k=0}^{\infty}\frac{(\mathbf{A}t)^k}{k!},\qquad \mathbf{A}^0=\mathbf{E}\cdot$$

вектора — строчки абсолютных вероятностей $p(t)=(p_1(t),\ldots,p_n(t))$, умножим уравнение (2.38) слева на $p(0)$ и учтем, что согласно формуле полных вероятностей (2.9) справедливо равенство $p(t)=p(0)\mathbf{P}(t)$ Тогда получим

$$\frac{dp(t)}{dt}=p(t)\mathbf{A} \tag{2.40}$$

или в координатной форме

$$\frac{dp_k(t)}{dt} = \sum_{j=1}^{n} p_j(t) a_{jk}(t), \qquad k = 1, 2, \ldots, n. \qquad (2.41)$$

Пример. Рассмотрим комплекс, который описывается однородной цепью Маркова. Предположим, что в некоторый момент времени t = 0 известно состояние комплекса ($\xi_0 = i$). Изменение этого состояния происходит в некоторый случайный момент времени. Обозначим через τ время до момента первого перехода комплекса в новое состояние. Каково распределение вероятностей времени ожидания перемены состояния τ? Предварительно отметим, что для того, чтобы комплекс в момент времени t остался i-м состоянии, необходимо и достаточно, чтобы $\tau > t$. Поэтому имеем следующее равенство

$$P(\xi_t = i/\xi_0 = i) = \mathrm{P}(\tau > t/\xi_0 = i) \qquad (2.42)$$

Следовательно, нам необходимо найти выражение для $P_{ii}(t)$. Для этого заметим, что для того, чтобы комплекс остался в i-м состоянии за время $t+s$, не переходя в другие состояния, необходимо в любой промежуточный момент времени также находиться в этом состоянии:

$$P_{ii}(t + \mathrm{s}) = P_{ii}(t) P_{ii}(\mathrm{s}). \qquad (2.43)$$

Но единственной дифференцируемой функцией, удовлетворяющей этому уравнению, является экспонента [см. вывод (2.39)]:

$$P_{ii}(t) = \mathrm{e}^{-\lambda_{ii} t} \qquad (2.44)$$

Так как $0 \le P_{ii}(t) \le 1$ то $\lambda_i \ge 0$. На малых интервалах времени выражение (2.44) может быть записано в виде ($\lambda_i < \infty$); $P_{ii}(t) = 1 - \lambda_i t + o(t)$. Сопоставляя полученное выражение с формулой (2.32), найдем, что $\lambda_{\mathrm{i}} = \sum_{j \ne \mathrm{i}} \mathrm{a}_{\mathrm{ij}}$. Таким образом, вероятность остаться в *i-м* состоянии через время t при условии, что в начальный момент комплекс уже находился в этом состоянии, есть

$$P(\tau > t/\xi_0 = i) = \mathrm{e}^{-(\sum_{j \ne i} a_{ij}) t} \qquad (2.45)$$

В связи с изложенным оказывается полезной следующая трактовка однородного во времени марковского случайного процесса, отражающего функционирование мультиферментного комплекса [Розанов, 1979].

В фиксированный момент времени $t = 0$ комплекс находится в одном из своих состояний, например в состоянии i. В этом состоянии комплекс пребывает случайное время τ_i, распределенное, как видно выше, по показательному закону, с параметром λ_i, т. е.:

$$P(\tau_i > t/\xi_0 = i) = \mathrm{e}^{-\lambda_i t} = \mathrm{e}^{-(\sum\limits_{j \neq i} a_{ij})t} \tag{2.46}$$

В момент времени $t = \tau_i$ комплекс мгновенно переходит из состояния i в новое состояние j с вероятностью

$$q_{ij} = \frac{a_{ij}}{\lambda_i} \equiv \frac{a_{ij}}{\sum\limits_{j \neq i} a_{ij}} \tag{2.47}$$

В состоянии j комплекс пребывает случайное время τ_j, также распределенное по показательному закону, но уже с параметром λ_j, и т. д.

Таким образом, функционирование мультиферментного комплекса, описываемого однородной цепью Маркова с непрерывным временем, определяется следующими величинами.

1. Начальным распределением комплекса

$$P(\xi_0 = i) = p_i(0), \tag{2.48}$$

с помощью которого выбирается исходное состояние i (с вероятностью $p_i(0)$ в качестве начального выбирается i-е состояние комплекса).

2. Совокупностью λ_i параметров показательного распределения времен пребывания комплекса в i -том состоянии, i =1, 2,..., n.

3. Вероятностями перехода q_{ij} из произвольного состояния i в произвольное состояние j.

Систему уравнений Колмогорова (2.41) можно записать в нескольких эквивалентных формах. Через величины параметров показательного распределения λ_i и вероятностей перехода $q_{ii} = a_{ii} / \sum a_{ii}$ система уравнений (2.41) может быть записана следующим образом:

$$\frac{dp_k(t)}{dt} = -\lambda_k p_k(t) + \sum_{j \neq k}^{n} p_j(t) \lambda_j q_{jk}(t) \tag{2.49}$$

В зависимости от удобства мы будем пользоваться необходимой нам записью уравнений.

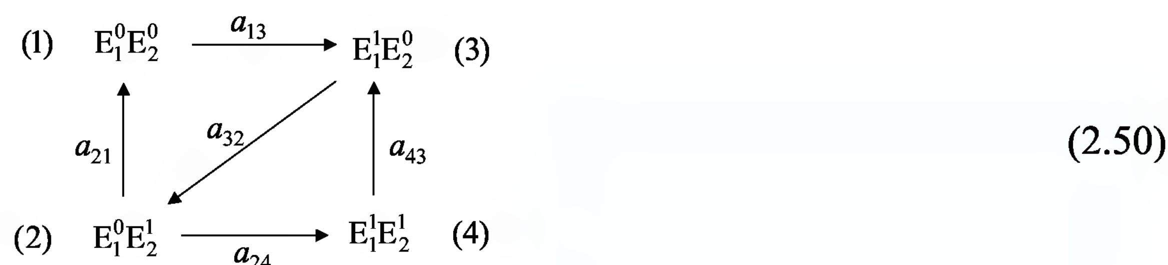
В заключение рассмотрим конкретный пример вывода уравнений Колмогорова для вероятностей состояний комплекса.

Пусть комплекс двух ферментов может находиться в следующих четырех состояниях:

$$\mathrm{E}_1^0\mathrm{E}_2^0, \ \mathrm{E}_1^0\mathrm{E}_2^1, \ \mathrm{E}_1^1\mathrm{E}_2^0, \ \mathrm{E}_1^1\mathrm{E}_2^1$$

(1) (2) (3) (4)

где цифры в скобках указывают номер состояния. Пусть комплекс может переходить из одного состояния в другое согласно схеме:



(2.50)

На этой схеме стрелками указаны возможные переходы комплекса из одного в другое. Рядом со стрелками приведены соответствующие плотности вероятностей переходов. В случае нулевых плотностей вероятностей перехода соответствующие переходы не указаны. Согласно этой схеме комплекс из первого состояния, в котором оба фермента свободны ($E_1^0E_2^0$), может перейти в третье состояние ($E_1^1E_2^0$), в котором первый фермент занят, а второй свободен с плотностью вероятности перехода a_{13}; из второго состояния комплекс может перейти в первое и четвертые состояния соответственно с плотностями вероятностей перехода a_{21} и a_{24} и т. д.

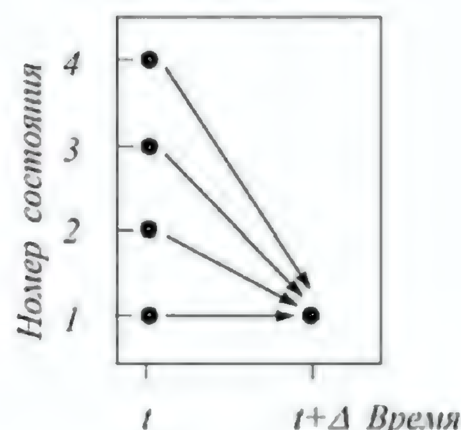


Рис. 19. К выводу системы уравнений Колмогорова для комплекса двух ферментов

Отметим, что с точки зрения химической кинетики плотности вероятностей перехода есть (псевдо) мономолекулярные константы скорости соответствующих переходов. Как найти вероятность $p_i(t)$ того, что комплекс двух ферментов находится в i-м состоянии в момент времени t? Для вывода уравнений, описывающих временное поведение вероятностей $p_i(t)$, поступим следующим образом. Фиксируем момент времени t и рассмотрим сначала вероятность того, что в момент времени $t+\Delta t$ комплекс находится в первом состоянии. Находиться в этом состоянии в момент времени $t+\Delta t$ комплекс может только при условии если (рис. 19, справа):

1. В предшествующий момент времени t комплекс уже находился в первом состоянии и за время Δt не вышел из него.
2. В предшествующий момент времени t комплекс был во втором состоянии, а затем за время Δt перешел из него в первое состояние.
3. В предшествующий момент времени t комплекс был в третьем состоянии, а за время Δt перешел в первое состояние.
4. В предшествующий момент времени t комплекс был в состоянии (4), а за время Δt перешел из него в первое состояние.

Таким образом, событие, состоящее в том, что комплекс находится в момент времени $t+\Delta t$ в первом состоянии ($\xi_{t+\Delta t} = 1$), можно представить как сумму перечисленных выше четырех не-

совместных событий:

$$(\xi_{t+\Delta t}=1)=(\xi_t=1,\ \xi_{t+\Delta t}=1)+\ldots+(\xi_t=4,\ \xi_{t+\Delta t}=1). \qquad (2.51)$$

Следовательно, в силу аддитивного свойства вероятности можно записать:

$$\mathrm{P}(\xi_{t+\Delta t}=1)=\sum_{i=1}^{4}\mathrm{P}(\xi_t=i,\xi_{t+\Delta t}=1), \qquad (2.52)$$

Но вероятность $\mathrm{P}(\xi_t=i,\xi_{t+\Delta t}=1)$ того, что в моменты времени t и $t+\Delta t$ комплекс находится и в i-м и в первом состояниях, можно представить через условную вероятность в следующем виде:

$$P(\xi_t=i,\xi_{t+\Delta t}=1)=P(\xi_t=i)P(\xi_{t+\Delta t}=1/\xi_t=i)=p_i(t)P_{i1}(\Delta t) \qquad (2.53)$$

В силу выражения (2.32) для величин плотностей вероятностей перехода имеем следующие соотношения:

$$P_{i1}(\Delta t)=\begin{cases}1-(\sum\limits_{k}^{4}a_{ik})\Delta t+o(\Delta t) & \text{, если } i=1,\\ a_{i1}\Delta t+o(\Delta t) & \text{, если } i\neq 1\end{cases} \qquad (2.54)$$

С учетом последнего соотношения равенство (2.52) можно пере-

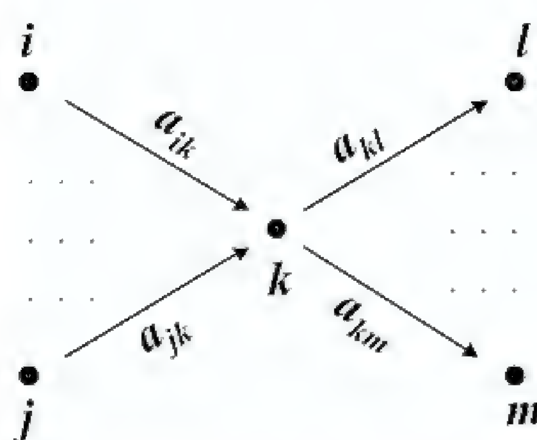


Рис. 20. К формулировке правила записи системы дифференциальных уравнений Колмогорова

$$p_1(t+\Delta t)=\sum_{i=2}^{4}p_i(t)a_{i1}\Delta t+$$

$$+p_1(t)[1-(a_{12}+a_{13}+a_{14})\Delta t]+\mathrm{o}(\Delta t)$$

Перенося $p_1(0)$ в левую сторону равенства, деля обе части соотношения на Δt и переходя к пределу $\Delta t\to 0$, получим, учитывая, что на схеме (2.50) ненулевыми являются лишь a_{21} и a_{13}:

$$dp_1/dt=p_2a_{21}-p_1a_{13}.$$

Аналогичным образом могут быть получены и уравнения для вероятностей остальных состояний:

$$dp_2/dt=p_3a_{32}-p_2(a_{21}+a_{24})$$

$$dp_3/dt=p_1a_{13}+p_4a_{43}-p_3a_{32}$$

$$dp_4/dt=p_2a_{24}-p_4a_{43}$$

Сравнивая полученные уравнения и схему (2.50), можно заметить, что между схемой и системой дифференциальных уравнений существует тесная связь, которая позволяет исходя из схемы сразу выписывать систему дифференциальных уравнений. Правило, по которому исходя из схемы (графа) можно выписать дифференциальные уравнения Колмогорова для вероятностей

состояний, можно сформулировать для любой цепи Маркова с непрерывным временем и конечным числом состояний [Вентцель, 1973]. Правило написания дифференциальных уравнений можно сформулировать следующим образом. В правой части дифференциального уравнения для *k*-го состояния со знаком плюс стоит столько членов, сколько на графе стрелок ведет в данное состояние, а со знаком минус стоит столько членов, сколько стрелок ведет из данного состояния. Каждый член в правой части уравнения независимо от знака имеет вид произведения вероятности того состояния откуда идет стрелка на величину соответствующей плотности переходной вероятности. Так, для схемы, представленной на рис. 20, уравнение для

$$dp_k/dt = p_i a_{ik} + \ldots + p_j a_{jk} - p_k a_{kl} - \ldots - p_k a_{km}, \quad k = 1,2,\ldots,n \tag{2.55}$$

2.9. Собственные значения матрицы коэффициентов уравнений Колмогорова

Как известно [Еругин, 1979], решение системы линейных дифференциальных уравнений с постоянными коэффициентами всегда может быть записано в виде линейной комбинации выражений вида $Q(t)e^{\lambda t}$, где λ — собственные значения матрицы коэффициентов этой системы дифференциальных уравнений, а $Q(t)$—некоторые полиномы переменной t. Ниже показано, что собственные значения матрицы коэффициентов системы дифференциальных уравнений (2.41) имеют неположительную действительную часть. Локализацию собственных значений матрицы **A** в формуле (2.40) дает доказываемая ниже теорема Гершгорина [Сарымсаков, 1954; Маркус, Минк, 1972; Ланкастер, 1978], согласно которой собственные значения произвольной матрицы $C = (c_{ij})$ лежат, по крайней мере, в одном из кругов с центрами c_{ii} и радиусами $\sum_{j \neq i} |c_{ij}|$, $i = 1, 2, ..., n$. Элементы интересующей нас матрицы A в формуле (2.40) удовлетворяют условиям:

$$a_{ij} \geq 0 \quad (i \neq j), \qquad a_{ij} = -\sum_{j \neq i} a_{ij} \tag{2.56}$$

Равенство $Ax = \mu x$ $(x \neq 0)$, определяющее собственное значение μ матрицы A, можно записать в виде n скалярных равенств:

$$\sum_{j \neq i} a_{ij} x_j + a_{ii} x_i = \mu x_i ,$$

Перенося член $a_{ii} x_i$ в правую часть равенства, получим следующее соотношение:

$$\sum_{j \neq i} a_{ij} x_j = (\mu - a_{ii}) x_i = (\mu + \sum_{j \neq i} a_{ij}) x_i \tag{2.57}$$

Пусть x_s — максимальная по модулю координата собственного вектора x: $|x_s| = \max_j |x_j|$. Тогда s-е равенство в выражении (2.57) с

$$\left|\mu + \sum_{j \neq s} a_{sj}\right| \cdot |x_s| = |\mu - a_{ss}| \cdot |x_s| = \left|\sum_{j \neq s} a_{sj} x_j\right| \leq \sum_{j \neq s} |a_{sj}| \cdot |x_j| \leq |x_s| \sum_{j \neq s} a_{sj}$$ Так как $|x_s| \neq_j 0$, то имеем

$$\left|\mu + \sum_{j \neq s} a_{sj}\right| \leq \sum_{j \neq s} a_{sj} \tag{2.58}$$

Это неравенство показывает, что собственные значения матрицы **A** коэффициентов уравнений (2.40) имеют неположительную действительную часть и ограничены по модулю величиной, равной $2 \sum_{j \neq s} a_{sj}$, т. е.

$$\operatorname{Re} \mu \leq 0, \qquad |\mu| \leq 2 \sum_{j \neq s} a_{sj}\,. \tag{2.59}$$

Заметим, что матрица коэффициентов A всегда имеет 0 своим собственным числом. Действительно, в силу выражения (2.56) справедливо равенство $\sum_{j=1}^{n} a_{ij} = \sum_{j \neq i} a_{ij} - \sum_{j \neq i} a_{ij}$, которое говорит о том, что вектор $1 = (1_1, ..., 1_n)$ является собственным для нулевого собственного значения: $\mathbf{A} \cdot 1 = 0 \cdot 1 = 0$.

В силу сказанного общее решение системы дифференциальных уравнений (2.41) может быть записано в виде $p_i(t) = c_{i1} + c_{i2} Q_2(t) e^{\lambda_2 t} + c_{i3} Q_3(t) e^{\lambda_3 t} + ... + c_{im} Q_m(t) e^{\lambda_m t}$, где все числа λ_i имеют отрицательную действительную часть, а $Q(t)$ — полиномы переменной t. Ясно, что при $t \to \infty$ решение стремится к величине, определяемой нулевым собственным значением, т. е. c_{i1}.

2.10. Предельные вероятности состояний

Как следует из уравнений Колмогорова (2.41), вероятность застать комплекс в том или ином состоянии изменяется с течением времени и зависит от начальных данных. Вместе с тем часто можно говорить о вероятности p_k застать комплекс в состоянии k независимо от выбранного момента времени и от начальных данных.

Предположим, что марковский процесс, описывающий функционирование мультиферментного комплекса, однороден во времени. Тогда плотности вероятностей переходов, определяемые

как

$$a_{ij} = \lim_{\Delta t \to 0} \frac{P_{ij}(\Delta t)}{\Delta t} \quad (i \neq j) \tag{2.60}$$

суть постоянные. Условимся называть однородный процесс Маркова, характеризуемый переходными вероятностями $P_{ij}(\Delta t)$ ($1 \leq i$, $j \leq n$), транзитивным, если существует такое t, $t > 0$, что $P_{ij}(\Delta t) > 0$ ($1 < i$, $j < n$) [Хинчин, 1963]. Иначе говоря, процесс транзитивен, если из каждого состояния процесс с ненулевой

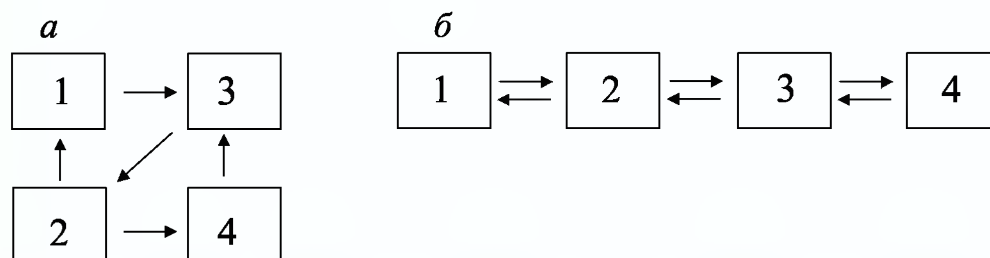


Рис. 21. Схемы переходов транзитивных случайных процессов

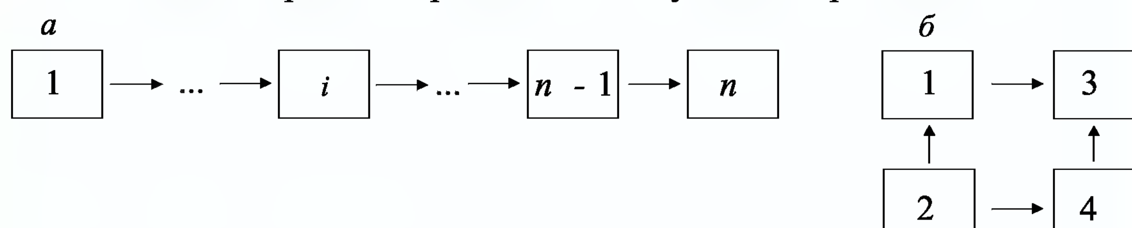


Рис. 22. Схемы переходов случайных процессов, для которых не выполнено условие транзитивности

попасть в любое другое состояние. На рис. 21 представлены графы, соответствующие транзитивным процессам. Здесь из любого состояния комплекс рано или поздно попадет в любое другое состояние. На рис. 22 показаны графы, соответствующие процессам, для которых условие транзитивности не выполнено. Очевидно, что если, например, в случае *а* начальным состоянием является состояние с номером i, то исходя из него могут быть достигнуты только состояния, лежащие правее, и не могут быть достигнуты состояния, лежащие левее.

Можно показать [см., например, Хинчин, 1963], что для однородного транзитивного процесса Маркова вероятности $p_k(t)$ при $t \to \infty$ стремятся к не зависящим от начальных данных числам p_k ($1 \leq k \leq n$)

$$\lim_{t \to \infty} p_k(t) = p_k \tag{2.61}$$

К этим же числам стремятся и переходные вероятности

$$\lim_{t \to \infty} P_{ik}(t) = p_k$$

Предельные вероятности мы будем обозначать теми же буквами $p_1, \ldots, p_n$, что и вероятности состояний.

Таким образом, при $t \to \infty$ устанавливается некоторый предельный стационарный режим. В стационарном режиме по-прежнему комплекс случайным образом изменяет свои состояния, но вероятности последних не зависят от времени. Другими словами, в этих условиях поведение комплекса случайно, но закон, управляющий случайностью, постоянен во времени.

Вероятностная интерпретация функционирования комплекса получает реальный смысл лишь в том случае, если известна совокупность объектов, в которой эта вероятность трактуется как доля того или иного признака. Так, в случае комплекса ферментов вероятность того, что комплекс находится в каком-либо состоянии, может быть соотнесена с долей комплексов, находящихся в данном состоянии в ансамбле большого числа невзаимодействующих комплексов. Вместе с тем в ряде случаев возможна и иная интерпретация стационарной вероятности застать комплекс в том или ином состоянии. Эта интерпретация связана с тем, что вероятности состояния комплекса отождествляются в определенном смысле со средними относительными временами пребывания комплекса в соответствующих состояниях [Хинчин, 1963]. Сказанное означает следующее. Обозначим через $\delta_k(t)$ величину

$$\delta_k(t)=\begin{cases} 1, \text{ если в момент времени } t \text{ комплекс находится в состоянии } k \\ 0, \text{ если комплекс в момент времени } t \text{ не находится в этом состоянии.} \end{cases}$$

Тогда отношение $(1/T)\int_0^T \delta_k(t)dt$ есть среднее относительное время пребывания комплекса в состоянии k за промежуток времени (0, T). Стационарную вероятность p_k застать комплекс в состоянии k можно понимать в том смысле, что [Хинчин, 1963]

$$p_k \approx \lim_{t\to\infty}\left[(1/T)\int_0^T \delta_k(t)dt\right]$$

Записанный знак $\approx$ означает, что рассматриваемые величины не тождественны друг с другом, а лишь вероятность больших отклонений стремится к нулю при $T \to \infty$. Иными словами, как бы мало ни было $\varepsilon>0$,

$$P\left(\left|p_k-(1/T)\int_0^T \delta_k(t)dt\right|>\varepsilon\right)\to 0 \quad \text{при} \quad T\to\infty.$$

Предположим, что условия однородности и транзитивности для рассматриваемого комплекса выполнены. Возникает вопрос, как найти предельные вероятности? Уже указывалось, что в рассматриваемых предположениях существует предел (2.61) вероятностей состояний $p_k = \lim_{t\to\infty} p_k(t)$. Отсюда следует, что правые части системы уравнений Колмогорова (2.41) при $t \to \infty$ также

имеют конечные пределы, а, следовательно, и левые части стремятся к конечным пределам при $t \to \infty$. Но такой предел может быть только нулем, поскольку в противном случае модуль соответствующих вероятностей был бы неограничен. Таким образом, мы приходим к выводу, что в системе дифференциальных уравнений Колмогорова $(dp_k/dt) \to 0$, при $t \to \infty$ (k=1, ..., n).

Вследствие этого в пределе, при $t \to \infty$, для определения стационарных вероятностей имеем систему алгебраических уравнений, получающуюся из соответствующей системы дифференциальных уравнений (2.41) приравниванием нулю производных в левой части

$$0 = \sum_{j=1}^{n}(p_j a_{jk} - p_k a_{kj}) \equiv \sum_{j \neq k} p_j a_{jk} - p_k \sum_{j \neq k} a_{kj}$$

Эта система алгебраических уравнений вместе с нормировочным условием $\sum_{k=1}^{n} p_k = 1$ может служить для однозначного определения искомых чисел p_k.

Рассмотрим пример вычисления стационарных вероятностей.

$$1 \overset{k_1}{\to} 2 \overset{k_2}{\to} 3 \overset{k_3}{\to} \ldots \overset{k_{n-1}}{\to} n, \quad n \overset{k_n}{\to} 1 \qquad (2.64)$$

Здесь для простоты обозначений не используются двойные индексы для нумерации плотностей вероятностей перехода k_i. Найдем стационарные вероятности. Запишем систему дифференциальных уравнений Колмогорова согласно правилу (2.55):

$$\begin{aligned} &dp_1/dt = p_n k_n - p_1 k_1 \\ &\ldots\ldots\ldots\ldots \\ &dp_n/dt = p_{n-1} k_{n-1} - p_n k_n \end{aligned} \qquad (2.65)$$

Приравняв все производные нулю, получим следующую систему алгебраических уравнений для определения стационарных вероятностей:

$$\begin{aligned} &p_n k_n - p_1 k_1 = 0 \\ &\ldots\ldots\ldots\ldots \\ &p_{n-1} k_{n-1} - p_n k_n = 0 \end{aligned} \qquad (2.66)$$

Из системы уравнений (2.66) вытекает, что $k_i p_i = k_j p_j$, ($1 \le i$, $j \le n$). В частности, для любого j-го состояния можно записать

$$p_j = (k_1/k_j) p_1, \quad j=1,2,\ldots,n. \qquad (2.67)$$

Подставляя (2.67) в условие нормировки $p_1 + p_2 + \ldots + p_3 = 1$, получим $k_1 p_1 (1/k_1 + 1/k_2 + \ldots + 1/k_n) = 1$. Откуда

$$p_1 = (1/k_1)/(1/k_1 + 1/k_2 + \ldots + 1/k_n) \qquad (2.68)$$

С учетом выражения (2.67) легко получить аналогичное соотношение и для вероятностей других состояний:

$$p_j = \frac{1/k_j}{1/k_1 + 1/k_2 + \ldots + 1/k_n}, \quad j = 1,2, \ldots, n. \qquad (2.69)$$

В силу указанной выше интерпретации стационарных вероятностей как средних относительных времен пребывания комплекса в соответствующих состояниях соотношение (2.69) можно представить в виде

$$p_j = \frac{\tau_j}{\tau_1 + \tau_2 + \ldots + \tau_n}$$

где τ_j — среднее время пребывания комплекса в j-м состоянии.

Заключение

В данной главе показано, что переходы между ферментными формами мультиферментного комплекса могут рассматриваться как марковский процесс с конечным числом состояний и непрерывным временем [см. также: Стефанов, 1975]. Учет этого обстоятельства позволяет при анализе функционирования мультиферментных комплексов использовать методы теории вероятностей и случайных процессов. Кроме того, вероятностная интерпретация функционирования ферментов дает возможность в ряде случаев получить необходимые соотношения, пользуясь простыми вероятностными соображениями.

Выбранная нами точка зрения на мультиферментный комплекс как на совокупность взаимодействующих центров, каждый из которых может находиться в конечном числе состояний, позволяет охватить чрезвычайно большой класс процессов, таких, как обычный ферментативный катализ, адсорбцию, окислительно-восстановительные реакции, эстафетный транспорт ионов [см., например: Маркин, Чизмаджев, 1974; Hill, 1976; Чизмаджев, Айтьян, 1982] и др. Состояния отдельных ферментов, входящих в комплекс, трактуются обобщенным образом. Это могут быть окисленные или восстановленные, протонированные или депротонированные состояния, а также состояния, отличающиеся наличием субстрата, ингибитора и др. Важно отметить, что если для всех указанных типов процессов исходные уравнения (относительно вероятностей различных состояний комплекса) имеют по существу идентичный вид, то величины, которые необходимо определить из этой системы уравнений для сравнения с экспериментом, различны для каждого класса процессов. Так, для ферментативной реакции, как правило, интересуются скоростью реакции, для транспорта ионов — потоком ионов, а для переноса

электронов в комплексах интересуются изменением во времени окисленности и (или) восстановленности индивидуальных переносчиков электронов при изменении внешних условий — концентрации доноров, акцепторов и т. д. В случае электронного транспорта скорость переноса электронов определяется состояниями комплекса как целого, а наблюдаемыми в эксперименте являются, как правило, лишь состояния отдельных переносчиков электронов. Это и обусловливает в основном специфику описания электрон-транспортных процессов в комплексах в отличие от других процессов (транспорт ионов и др.). Вместе с тем, признавая идентичность исходной системы уравнений, можно переводить соотношения, получаемые, например, для описания скорости ферментативной реакции в аналогичные соотношения, относящиеся к какому-либо другому процессу. В этом смысле показателен тот факт, что уравнения, описывающие поведение центра, могущего находиться в двух состояниях, имеют не менее 20 (!) различных наименований. Сводки некоторых названий в ферментативном катализе можно найти в книгах Диксона и Уэбба [1982] и Рубина [1984].

Глава 3

КИНЕТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ТРАНСПОРТА ЭЛЕКТРОНОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

В главе рассмотрены существующие в литературе подходы к описанию транспорта электронов в биологических системах. Проанализированы два различных по физическому смыслу типа взаимодействия переносчиков электронов — в комплексах, внутри которых задан строгий порядок взаимодействия переносчиков, и между подвижными переносчиками электронов, взаимодействующими друг с другом путем соударений. Построенная в предыдущей главе вероятностная модель мультиферментного комплекса конкретизируется для описания переноса электронов в комплексах молекул-переносчиков. Как и ранее, центральным является понятие состояния комплекса как целого, которое определяется как пересечение состояний отдельных переносчиков, составляющих комплекс. Такое определение понятия состояний комплекса молекул-переносчиков, при естественных предположениях, позволяет записать систему линейных дифференциальных уравнений относительно вероятностей состояний комплекса. Линейный характер кинетических уравнений расширяет возможности аналитического исследования. В заключительном параграфе приводится обоснование использования вероятностного описания.

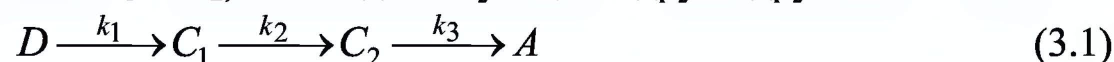
3.1. Два механизма взаимодействия переносчиков электронов

Кинетика электронтранспортных процессов при фотосинтезе и дыхании является объектом интенсивного изучения в течение многих лет. Для количественного описания переноса электронов через дыхательную цепь митохондрий Чанс и сотр. [Chance et al., 1955; Chance, Williams, 1956; Chance et al., 1958; Чанс, 1963] применили кинетическую схему, согласно которой этот процесс представляет собой последовательность бимолекулярных реакций, протекающих в гомогенной среде. Предполагалось, что взаимодействие компонентов подчиняется закону действующих масс, т. е., что скорость реакции переноса электронов пропорциональна произведению концентраций реагентов в соответствующей форме [Chance et al., 1955; Chance, Williams, 1956].

Уже на первых этапах применения метода математического моделирования для описания электронтранспортных процессов необходимо было выбрать между двумя типами моделей, описывающих взаимодействие переносчиков электронов друг с другом [Чанс, 1963; Гарфинкель, 1967; Гарфинкель, 1968; Chance et al., 1955; Wagner, Erecinska, 1971]. В моделях первого типа одна молекула переносчика может взаимодействовать только лишь с одной, структурно определенной молекулой другого переносчика. В моделях второго типа, в противоположность первому случаю, взаимодействуют многие молекулы переносчиков. Первоначально была выдвинута гипотеза о переносе электронов в биологических системах путем соударений молекул-переносчиков [Чанс, 1963]. Именно в связи с этим при количественном описании переноса электронов использовался закон действующих масс. Кроме того, при моделировании электронного транспорта было обнаружено, что, несмотря на существенно отличный тип уравнений, в обоих рассматриваемых случаях, разница между кинетикой окислительно-восстановительных превращений молекул-переносчиков в моделях, использующих различные предположения о характере структурной организации переносчиков иногда находится внутри экспериментальных ошибок [Pring, 1968; Wagner, Erecinska, 1971]. Причина такого соответствия будет рассмотрена нами в следующей главе. Тем не менее, исследование, проведенное с помощью метода Монте-Карло, показало [Chance et al., 1962; Гарфинкель, 1967; Гарфинкель, 1968], что в этих описаниях возможно существенное различие, причем связанная цитохромная система ведет себя как фиксированная в мембране, а не как система, подчиняющаяся закону действующих масс. Рассмотрим указанные два механизма взаимодействия переносчиков электронов в цепях электронного транспорта более подробно.

Перенос электронов между подвижными переносчиками

Если переносчики электронов достаточно подвижные, чтобы взаимодействовать друг с другом посредством соударений, то кинетика переноса электронов между переносчиками может быть описана исходя из обычного закона действующих масс, согласно которому скорость реакции пропорциональна произведению концентраций реагирующих веществ [Chance, Williams, 1956]. В рассматриваемом случае электронтранспортная цепь представляет собой динамическое образование, в котором нет жесткой стехиометрии переносчиков электронов, а сама цепь существует благодаря кинетическим ограничениям, не позволяющим взаимодействовать исходному донору и конечному акцептору, минуя переносчики электронов. Рассмотрим в качестве примера реакцию переноса электронов между двумя одноэлектронными переносчиками C_1 и C_2, взаимодействующими друг с другом по схеме



$$D \xrightarrow{k_1} C_1 \xrightarrow{k_2} C_2 \xrightarrow{k_3} A \qquad (3.1)$$

Кинетические уравнения, описывающие рассматриваемые окислительно-восстановительные реакции и полученные исходя из закона действующих масс, могут быть записаны в следующем виде:

$$\begin{aligned} d[C_1^1]/dt &= k_1'[D^1][C_1^0] - k_2'[C_1^1][C_2^0], \\ d[C_2^1]/dt &= k_2'[C_1^1][C_2^0] - k_2'[C_2^1][A^0]. \end{aligned} \qquad (3.2)$$

Здесь $[D^1]$, $[C_1^1]$, $[C_2^1]$ — концентрации восстановленной формы донора D и переносчиков электронов C_1 и C_2; $[C_1^0]$, $[C_2^0]$, $[A^0]$ — концентрации окисленной формы переносчиков C_1, C_2 и акцептора A; k_1', k_2', k_3' — бимолекулярные константы скорости соответствующих реакций.

Будем предполагать, что концентрация соответствующих форм экзогенных доноров и акцепторов поддерживается постоянной на всем рассматриваемом промежутке времени и что общие концентрации рассматриваемых переносчиков равны друг другу. В частности, для переносчиков C± и C_2 выполняются следующие равенства:

$$[C_1^1] + [C_1^0] = [C_1]_0 = [C_2]_0 = [C_2^1] + [C_2^0], \qquad (3.3)$$

Это позволяет переписать систему дифференциальных уравнений (3.2) в следующем виде, где переменными уже являются относительные концентрации соответствующих переносчиков электронов в восстановленной форме [Pring, 1968; Clement-Metral, 1969]:

$$\begin{aligned} dy_1/dt &= k_1(1-y_1) - k_2 y_1(1-y_2), \\ dy_2/dt &= k_2(1-y_2)y_1 - k_3 y_2. \end{aligned} \qquad (3.4)$$

Здесь

$$y_1 = [C_1^1]/[C_1]_0; \; y_2 = [C_2^1]/[C_2]_0; \; k_1 = k_1'[D^1]; \; k_3 = k_3'[A^0].$$

Моделирование электронтранспортных процессов, проведенное на основе закона действующих масс, оказалось весьма продуктивным и позволило в ряде случаев не только описать экспериментально наблюдаемую кинетику редокс-превращений отдельных переносчиков, но и путем сравнения данных моделирование с результатами экспериментов уточнить структуру и функциональную организацию электронтранспортных цепей. Поскольку это направление кинетического анализа отражено в ряде обзоров [Chance, Williams, 1956; Pring, 1968; Garfinkel et al., 1970; Рубин и др., 1977; Березин, Варфоломеев, 1979; Венедиктов и др., 1980а; Шинкарев и др., 1980], мы не будем подробно останавливаться на рассмотрении работ, основанных на кинетическом законе действующих масс, и ограничимся лишь перечислением некоторых ключевых работ [Chance et al., 1955; Chance, Williams, 1956; Чанс, 1963; Рубин, Фохт, 1965; Рубин и др., 1968а, 19686; Pring, 1968; Борисов, Ивановский, 1970; Пытьева и др., 1973; Кукушкин и др., 1973; Holzapfel, Bauer, 1975; Куприянов и др., 1977; Рубин и др., 1977; Кукушкин, 1980].

Однако рассмотренный механизм взаимодействия переносчиков электронов возможен лишь для переносчиков (или комплексов переносчиков), достаточно быстро передвигающихся в мембране или примембранном пространстве и взаимодействующих друг с другом путем случайных соударений и, строго говоря, не применим для описания переноса электронов внутри комплексов, в которые организовано большинство переносчиков ЦЭТ.

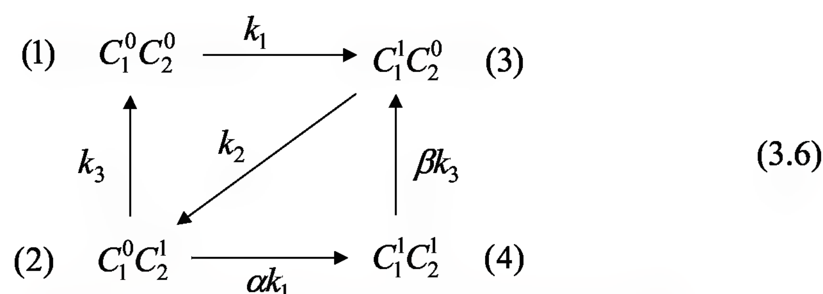
Перенос электронов в комплексах

Впервые транспорт электронов внутри структурных комплексов молекул переносчиков электронов был рассмотрен Холмсом [Holmes, 1959] для дыхательной электронтранспортной цепи и Малкиным [Malkin, 1966] для фотосинтетической электрон-транспортной цепи. Затем электронный транспорт в комплексах был рассмотрен в работах [Malkin, 1969, 1972, 1977; Сорокин, 1973; 1976: Литвин, 1975; Hill, 1976; Sorokin, 1978; Варфоломеев и др., 1977, Шинкарев, Венедиктов, 1977; Hill, Chance,1978; Березин, Варфоломеев, 1979; Варфоломеев, 1976, 1981] и др. В отличие от подвижных переносчиков электронов, где каждая восстановленная молекула переносчика C_1 могла отдать электрон любой окисленной молекуле C_2, в рассматриваемом случае восстановленный переносчик C_1 может взаимодействовать только с тем окисленным переносчиком C_2, который находится с C_1 в одном и той же комплексе. Кроме того, перенос электронов между переносчиками в рассматриваемом случае является мономолекулярным процессом, поскольку в комплексе в едином акте происходит как окисление C_1 так и восстановление C_2. В силу этого

перенос электрона не имеет места, когда оба переносчика, входящих в комплекс, одновременно окислены или одновременно восстановлены. Таким образом, для описания переноса электронов в электрон-транспортных комплексах необходимо рассматривать состояния сразу двух переносчиков, участвующих в переносе электронов. Суммарная скорость переноса электронов между C_1 и C_2 в рассматриваемом случае пропорциональна концентрации комплексов, находящихся в состоянии $C_1^1C_2^0$, когда переносчик C_1 восстановлен, а переносчик C_2 окислен, т. е. скорость переноса электронов между переносчиками C_1 и C_2

$$V \sim [C_1^1C_2^0] \tag{3.5}$$

Пусть переносчики электронов, находящиеся в комплексе, взаимодействуют друг с другом согласно схеме (3.1). Удобно переходы между различными состояниями комплекса двух переносчиков изображать в виде графа, в вершинах которого находятся состояния комплекса, а стрелки указывают возможные переходы между состояниями комплекса. В частности, для схемы (3.1) граф состояний будет иметь вид [Malkin, 1966; Pring, 1968; Сорокин, 1973; Шинкарев, Венедиктов, 1977].



(3.6)

На этой схеме верхние индексы 0 и 1 у C_1 и C_2 показывают отсутствие или наличие электрона на соответствующем переносчике: например, $C_1^0C_2^1$ означает такое состояние комплекса, когда первый переносчик окислен, а второй — восстановлен. Цифры в скобках указывают номер состояния комплекса. k_i — константы скорости соответствующих переходов, причем константы скорости k_1 и k_3 пропорциональны концентрации экзогенных доноров и акцепторов в соответствующей форме:

$$k_1 = k_1'[D^1], \qquad k_3 = k_3'[A^0]. \tag{3.7}$$

Существенно, что константа скорости k_2 внутрикомплексного переноса электронов имеет мономолекулярный характер.

В отличие от переноса электронов между подвижными переносчиками в рассматриваемом случае возможна **кооперативность** в переносе электрона, т. е. зависимость констант скорости переноса электрона от состояния всех переносчиков, входящих в комплекс. Параметры α и β на схеме (3.6) характеризуют степень кооперативности. Так, например, перенос электрона от экзогенного донора в комплекс может существенно зависеть от зарядового состояния второго переносчика ($\alpha \neq 1$). Для концен-

траций различных состояний комплекса двух ферментов можно записать систему уравнений, которая полностью аналогична получающейся при рассмотрении переходов между различными. состояниями мультиферментного комплекса:

$$
\begin{aligned}
&d[C_1^0C_2^0]/dt = k_3'[A^0][C_1^0C_2^1] - k_1'[D^1][C_1^0C_2^0],\\
&d[C_1^0C_2^1]/dt = k_2[C_1^1C_2^0] - (k_3'[A^0] + \alpha k_1'[D^1])[C_1^0C_2^1],\\
&d[C_1^1C_2^0]/dt = k_1'[D^1][C_1^0C_2^0] + \beta k_3'[A^0][C_1^1C_2^1] - k_2[C_1^1C_2^0],\\
&d[C_1^1C_2^1]/dt = \alpha k_1'[D^1][C_1^0C_2^1] - \beta k_3'[A^0][C_1^1C_2^1].
\end{aligned}
\tag{3.8}
$$

Решив систему дифференциальных уравнений относительно концентраций состояний комплекса (с соответствующими начальными условиями), можно найти также и концентрацию состояний **отдельных** переносчиков электронов, просуммировав концентрации всех тех состояний комплекса, в которых находится рассматриваемый переносчик в интересующем нас состоянии. Например, концентрация восстановленной формы первого переносчика равна

$$\left[C_1^1\right] = \left[C_1^1C_2^0\right] + \left[C_1^1C_2^1\right] \tag{3.9}$$

Кинетика переноса электронов в комплексах молекул-переносчиков даже в отсутствие кооперативности (α=β=1) может суще-

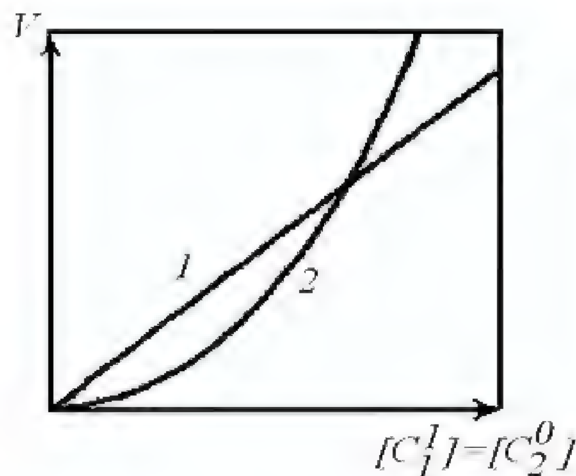


Рис. 23. Зависимость скорости переноса электронов между C_1 и C_2 от концентрации реагентов для случая подвижных переносчиков *(2)* и переносчиков, организованных в комплексы (*1*)

ственно отличаться от таковой между подвижными переносчиками, поскольку зависит от объемной концентрации состояний комплекса, а не от объемной концентрации отдельных переносчиков, как это имеет место для подвижных переносчиков. В связи, с этим для рассматриваемых двух механизмов переноса электронов зависимость скорости переноса электронов от концентрации реагентов существенно различна. В случае комплексов скорость реакции линейно зависит от концентрации обоих реагентов (предполагаем, что концентрации обоих реагентов равны друг другу). В то же время аналогичная зависимость для подвижных переносчиков носит квадратичный характер (рис. 23). Поэтому

скорость переноса электрона в комплексах может быть достаточно быстрой даже при чрезвычайно малой концентрации реагентов, так как последние уже исходно находятся в «реакционноспособном» комплексе. В качестве иллюстрации к сказанному рассмотрим простой пример. Как правило, бимолекулярная константа скорости химической реакции в растворе не превышает 10^{10} $М^{-1}с^{-1}$ [Даниэльс, Олберти, 1978]. Считая, что концентрации реагентов составляют 1 мкМ, имеем для скорости реакции $V=10^{10}\cdot10^{-12}=10^{-2}$ $Мс^{-1}$. Если считать мономолекулярную константу скорости равной 10^{10} $с^{-1}$ (а для скорости переноса электронов в фотосинтетических реакционных центрах это справедливо), то при той же концентрации реагентов скорость реакции равна $V=10^{10}\cdot10^{-6}=10^{4}$ $М\cdot с^{-1}$. Таким образом, суммарная реакция в комплексах может быть на нес-колько порядков быстрее, чем между подвижными переносчи-ками, только за счет организации переносчиков электронов в комплексы.

Рассмотрим теперь более подробно вероятностную модель переноса электронов в комплексах молекул-переносчиков, которая является детализацией модели, изложенной в гл. 2.

3.2. Перенос электронов в мультиферментных комплексах. Построение модели

Как уже указывалось в гл. 1, цепь электронного транспорта при фотосинтезе и дыхании образована из небольшого числа встроенных в мембрану мультиферментных комплексов, причем переносчики электронов, входящие в тот или иной комплекс, в определенных условиях могут помимо обмена электронами присоединить протон, а также взаимодействовать с теми или иными лигандами. Поэтому в общем случае необходимо рассматривать все состояния, в которых может находиться комплекс. Состояния комплекса молекул переносчиков в этом случае могут быть определены [Шинкарев, Венедиктов, 1977] как пересечение состояний отдельных переносчиков, образующих комплекс, причем каждый из переносчиков электронов может находиться в окисленной или восстановленной форме, протонированном или депротонированном состоянии и т. д. Как известно из гл. 2, перенос электронов можно описать следующей системой линейных дифференциальных уравнений относительно состояний комплекса молекул переносчиков:

$$\frac{dp_k(t)}{dt}=\sum_j p_j(t)a_{jk}(t), \qquad p_k(0)=b_k. \tag{3.10}$$

Здесь $p_k(t)$ —вероятность того, что комплекс переносчиков находится в состоянии k в момент времени t, a_{jk}— константы скорости перехода из j-го состояния комплекса в k-ое ($j\neq k$), $a_{kk}=-\sum_{j\neq k}a_{kj}$.

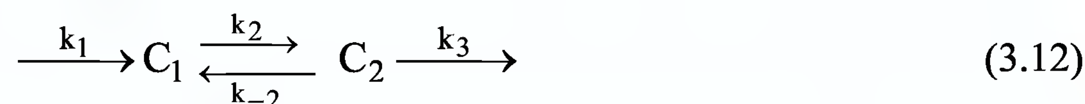
Основной задачей кинетического описания переноса электронов в комплексах молекул переносчиков является выяснение временного поведения вероятностей $p_k=P(S_k, t)$ состояний комплекса. Определив вероятность каждого состояния комплекса, можно, просуммировав вероятности всех тех состояний комплекса, в которые входит данный переносчик в соответствующем состоянии, определить и вероятности состояний любого отдельного переносчика, которые, как правило, и определяются в эксперименте. Например, вероятность того, что C_i переносчик электронов находится в окисленной форме, равна

$$P(C_i^0, t) = \sum_{S_l \subset C_i^0} P(S_l, t) \qquad (3.11)$$

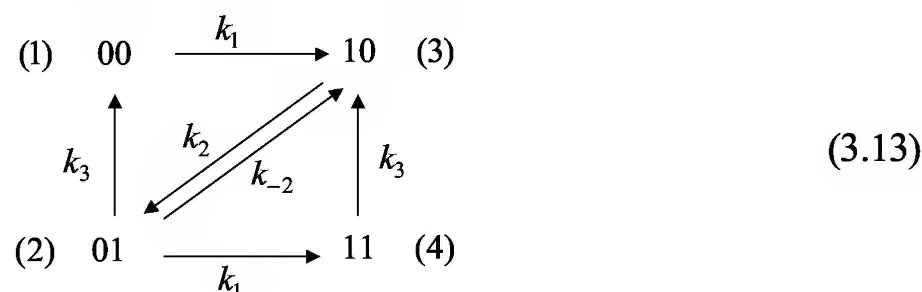
Для большого числа одинаковых невзаимодействующих (независимых) комплексов введенные выше вероятности $P(S_i, t)$ и $P(C_1^1,t)$ равны соответственно доле, комплексов, находящихся в состоянии S_i, и доле комплексов, в которых переносчик C_i находится в окисленном состоянии.

Рассмотрим в качестве примера перенос электронов в комплексе двух, трех и четырех переносчиков.

Пусть переносчики электронов взаимодействуют друг с другом по схеме

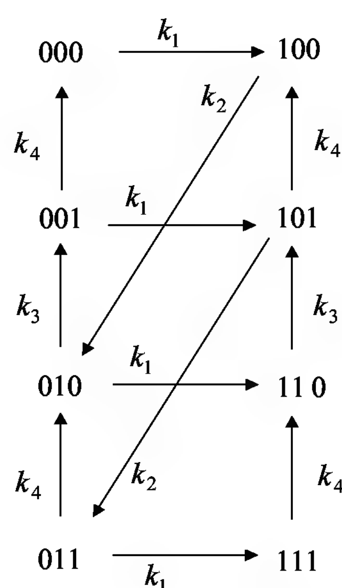


Здесь и далее будем предполагать для простоты, что отсутствует кооперативность в переносе электронов. Кроме того, для упрощения обозначений будем опускать обозначения переносчиков электронов. В этом случае граф состояний комплекса имеет следующий вид, полностью аналогичный (3.6):

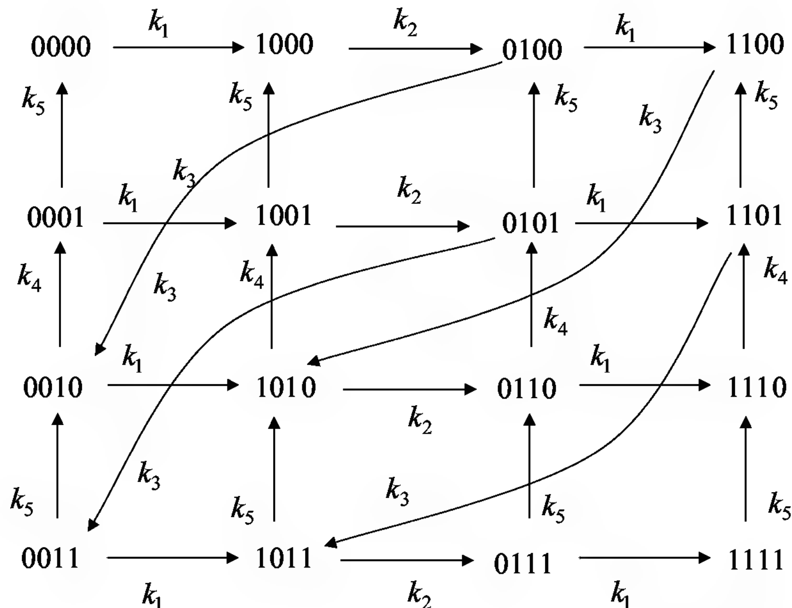


При большем числе переносчиков граф состояний комплекса существенно усложняется и для комплекса n переносчиков, каждый из которых может находиться только в двух состояниях., окисленном и восстановленном, содержит 2^n различных состояний. Ниже в качестве примера представлены схемы взаимодействия и графы состояний для комплексов трех (3.14) и четырех (3.15) переносчиков.

Исходя из схемы (3.13) можно записать следующую систему дифференциальных уравнений относительно вероятностей



(3.14)



(3.15)

состояний комплекса p_i=P(S_i, t):

$$dp_1 / dt = k_3 p_2 - k_1 p_1,$$
$$dp_2 / dt = k_2 p_3 - (k_1 + k_3 + k_{-2}) p_2,$$
$$dp_3 / dt = k_1 p_1 + k_3 p_4 + k_{-2} p_2 - k_2 p_3,$$
$$dp_4 / dt = k_1 p_2 - k_3 p_4, \quad (p_1 + p_2 + p_3 + p_4 = 1). \tag{3.16}$$

Вероятности окислительно-восстановительных состояний переносчиков записываются через вероятности состояний данного комплекса согласно выражению (3.11) следующим образом:

$$P(C_1^1, t) = 1 - P(C_1^0, t) = P(S_3, t) + P(S_4, t),$$
$$P(C_2^1, t) = 1 - P(C_2^0, t) = P(S_2, t) + P(S_4, t). \tag{3.17}$$

Стационарные значения вероятностей состояний комплекса можно рассчитать либо из системы алгебраических уравнений, получающейся из выражения (3.16) приравниванием производных нулю, либо непосредственно по графу состояний (3.13) (подробнее см. гл. 2).

Выше был рассмотрен простейший случай, когда константы скорости обмена электронами переносчиков мультиферментного комплекса со средой не зависит от времени. Тем самым фактически предполагалось, что концентрации веществ, способных служить донором или акцептором электронов для данного комплекса, постоянны. Если же концентрации этих веществ зависят от времени, то соответствующие псевдомономолекулярные константы скорости должны быть представлены в виде произведения бимолекулярных констант скорости на концентрацию доноров или акцепторов. Для полного описания такой системы к системе уравнений (3.16) необходимо добавить уравнения для концентраций акцепторов и доноров.

Если в рассмотренном выше примере (схема 3.13) концентрация некоторого вещества A, находящегося в растворе и принимающего электроны от C_2, изменяется во времени, то всюду вместо k_3 необходимо писать $k_3'[A^0]$. Уравнение для A имеет вид

$$\frac{d[A^1]}{dt} = k_3'[A^0]\, n\, [1 - P(S_2,t) - P(S_4,t)], \tag{3.18}$$

где $[A^1]$. $[A^0]$—концентрации восстановленной и окисленной форм вещества A, n —число комплексов в единице объема.

3.3. Обоснование вероятностного описания

В случае одинаковых комплексов молекул переносчиков несложно убедиться в том, что среднее число комплексов, находящихся в данном состоянии в рассматриваемый момент времени 1, пропорционально вероятности найти отдельный комплекс в этом состоянии.

Поскольку уравнения (3.10), записанные относительно вероятностей состояний комплекса, линейны, то они по форме совпадают с таковыми для математических ожиданий.

Согласно закону больших чисел при стремлении общего числа комплексов к бесконечности вероятность отклонения числа комплексов, находящихся в данном состоянии, от их среднего числа, находящегося в этом состоянии, стремится к нулю [см., например, Гнеденко, 1965, гл. 6]. Поскольку обычно число комплексов, с которыми имеют дело на практике (макроскопический образец), не меньше, чем 10^{15}, то в рассматриваемом случае нет существенной разницы между более общим вероятностным подходом и детерминированным, в котором фигурируют средние численности тех или иных состояний комплекса. Мы тем не менее будем пользоваться вероятностной записью уравнений, поскольку это [Шинкарев и др., 1980]: 1) позволяет сразу работать с безразмерной формой уравнений; 2) удобно для интерпретации явлений зависимости и независимости различных состояний переносчиков электронов; 3) позволяет применить понятия и методы, развитые в теории вероятностей и случайных процессов (условные вероятности, формула полных вероятностей, марковские случайные процессы и т. д.); 4) позволяет по-новому взглянуть на вывод кинетических уравнений и выяснить те ограничения, при которых они справедливы; 5) позволяет при анализе кинетики функционирования мультиферментного комплекса пользоваться вероятностной интерпретацией получаемых соотношений.

Заключение

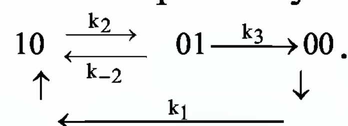
Рассмотренные в предыдущей главе характерные черты функционирования мультиферментных комплексов, а также способа их описания могут быть следующим образом конкретизированы

для случая переноса электронов в комплексах молекул переносчиков:

1. Скорость переноса электронов в комплексах определяется состояниями комплекса как целого, а не состояниями отдельных: переносчиков электронов, составляющих комплекс.

2. Для переноса электронов в комплексах характерна кооперативность в переносе электронов, т. е. зависимость скорости переноса электронов между переносчиками от состояния всех других переносчиков, составляющих комплекс.

3. Для переноса электронов в комплексах характерен эффект переключения пути реакции при изменении иерархии величин, констант скорости. Так, для схемы переноса электронов (3.13) при $k_1 >> k_3$ в основном реализуется путь переноса электронов в полной цепи: $10 \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} 01 \xrightarrow{k_1} 11$, $11 \xrightarrow{k_3} 10$. Если же $k_3 >> k_1$ то реализуется главным образом путь переноса электронов в пустой цепи:



4. Независимость скорости переноса электронов от объемных концентраций отдельных переносчиков электронов. При наблюдении за состояниями отдельных переносчиков обычно предполагают, что этого достаточно, чтобы определить и скорость переноса электронов в комплексах. Однако скорость переноса электронов определяется состояниями комплекса, а не состояниями отдельных переносчиков. Таким образом, одной из наиболее специфических черт переноса электронов в комплексах является то, что скорость переноса электронов определяется состояниями, комплекса, а наблюдаемыми в эксперименте, как правило, являются лишь состояния отдельных переносчиков.

5. Эффект блокировки переноса электронов при восстановлении переносчика, на который переносится электрон. Поскольку в комплексах перенос электронов осуществляется по принципу «один на один», то восстановление переносчика, на который должен быть перенесен электрон, естественно становится невозможным. Отметим, что в случае подвижных переносчиков подобный эффект выражен не так ярко, поскольку при восстановлении одной молекулы имеется возможность перенести электрон на оставшиеся окисленные молекулы.

6. Экспоненциально быстрый рост числа состояний комплекса, наблюдаемый при увеличении числа переносчиков, входящих в комплекс. Этот аспект переноса электронов в комплексах необходимо учитывать при проведении эксперимента с электрон-транспортными комплексами. Так, для комплекса из 5 переносчиков, каждый из которых находится в двух состояниях — окис-

ленном и восстановленном, комплекс может находиться в $2^5 = 32$ состояниях.

7. В силу марковского характера переноса электронов в комплексах (это обычный постулат, используемый в ферментативном катализе) перенос электронов может быть описан системой **линейных** дифференциальных уравнений относительно вероятностей состояний комплекса.

Рассмотренные особенности переноса электронов в комплексах приводят к тому, что кинетика переноса электронов в них может существенно отличаться от таковой, описываемой законом действующих масс.

Глава 4

СРАВНЕНИЕ КИНЕТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА

Задачей данной главы является анализ и сравнение существующих в настоящее время кинетических моделей электронного транспорта в биологических системах. Сравнение моделей электронного транспорта проведено на основе сформулированного ранее [Шинкарев, Венедиктов, 1977] вероятностного описания переноса электронов в комплексах молекул переносчиков. В главе установлены условия, при которых при описании электронного транспорта в комплексах можно пользоваться уравнениями относительно концентраций состояний отдельных переносчиков, составляющих комплекс. Обсуждается связь между законом действующих масс, применимым к подвижным переносчикам, и моделью, описывающей перенос электронов в структурных комплексах. Рассматриваются условия, при которых закон действующих масс можно применять для описания окислительно-восстановительных реакций в комплексах молекул-переносчиков. Выявлены различия в кинетике транспорта электронов между подвижными переносчиками электронов и между переносчиками, организованными в комплексы. Обсуждаются различные виды симметрии в переносе электронов.

4.1. Система зацепляющихся уравнений

Как правило, большинство экспериментальных методов, используемых для исследования транспорта электронов в биологических системах (абсорбционная спектроскопия, ЭПР и др.), позволяют наблюдать только редокс-состояния отдельных переносчиков электронов. Между тем скорость переноса электронов в комплексах определяется состояниями комплекса как целого,

а не состояниями отдельных переносчиков, входящих в комплекс. Следовательно, представляется необходимым выяснить те условия, при которых скорость переноса электронов в комплексе определяется только редокс-состояниями отдельных переносчиков.

Как уже указывалось в гл. 2, состояния отдельных переносчиков можно найти как объединение соответствующих состояний комплекса молекул переносчиков. Например, для восстановленной формы C_j-го переносчика можно записать:

$$C_j^1 = \bigcup_l S_l, \tag{4.1}$$

где суммирование производится по всем тем состояниям комплекса S_l, в которых данный переносчик электронов находится в восстановленной форме. Поскольку S_l — все возможные несовместные состояния комплекса, то (см. гл. 2)

$$P(C_j^1) = \sum_l P(S_l); \qquad P(C_j^0) = 1 - P(C_j^1). \tag{4.2}$$

Здесь $P(C_j^1)$ есть вероятность того, что j-й переносчик электронов находится в восстановленной форме.

Ниже показано, что если при описании электрон-транспортных процессов в комплексе, состоящем из m переносчиков, в качестве переменных используются не вероятности состояний комплекса в целом, а вероятности меньшего числа переносчиков (k), то полученные уравнения не замкнуты в том смысле, что в них входят вероятности состояний (k+1) переносчиков. В частности, не может быть написана и замкнутая система дифференциальных уравнений относительно вероятностей состояний отдельных переносчиков, если только нельзя выразить вероятности состояний пар переносчиков через вероятности состояний отдельных переносчиков электронов.

Рассмотрим перенос электронов в комплексе m одноэлектронных переносчиков $C_1,\ldots, C_m$. Будем предполагать, что отсутствует кооперативность в переносе электронов. Кинетика переноса электронов в таком комплексе может быть описана следующей системой линейных дифференциальных уравнений относительно вероятностей $p_i=P(S_i)$ состояний комплекса молекул переносчиков (см. гл. 3):

$$\frac{dp_l(t)}{dt} = \sum_{j\neq l}^{n} (a_{jl}p_j - a_{lj}p_l), \quad l, j = 1, 2, \ldots, 2^m, \tag{4.3}$$

где a_{lj} — константы скорости перехода комплекса из l-го состояния в j-е.

Учитывая систему дифференциальных уравнений (4.3) относительно вероятностей состояний комплекса, а также формулу (4.2) для вероятности редокс-состояния отдельного переносчика, входящего в комплекс, имеем следующую систему дифференциальных уравнений относительно вероятностей редокс-состояний отдельных переносчиков:

$$\frac{dP(C_j^1,t)}{dt} = \sum_{i\neq j} k_{ij}P(C_i^1C_j^0) - \sum_{s\neq j} k_{js}P(C_j^1C_s^0) + \\ + \sum_{q\neq j} m_{qj}P(C_j^0) - \sum_{r\neq j} m_{jr}P(C_j^1) \tag{4.4}$$

в которой $i, j, s, q, r = 1, 2, \ldots, m$; $P(C_i^1 C_j^0)$ — вероятность того что C_i-й переносчик восстановлен, а C_j-й переносчик окислен; k_{ij} (k_{js}) — константы скорости переноса электронов между переносчиками C_i (C_j) и C_j (C_s); m_{qj} (m_{jr}) — псевдомономолекулярные константы скорости обмена электронами комплекса со средой. В системе уравнений (4.4) фигурируют вероятности редокс-состояний пар переносчиков $P(C_i^1 C_j^0)$ и т. п. вследствие того, что прямой перенос электрона в комплексе от C_i-го переносчика на C_j-й возможен лишь в том случае, когда переносчик C_i восстановлен, а C_j окислен, т. е. когда комплекс переносчиков находится в состоянии $(C_i^1 C_j^0)$. Перенос электрона от C_i к C_j невозможен, если комплекс находится, например, в состоянии $(C_i^1 C_j^1)$. Во избежание недоразумений отметим, что константы скорости a_{ij} переходов между состояниями комплекса в системе (4.3) обязательно совпадают с какой-либо из констант скорости переноса электронов, фигурирующих в системе уравнений (4.4).

Система уравнений (4.4) не замкнута относительно вероятностей редокс-состояний отдельных переносчиков $P(C_j^1)$, $P(C_j^0)$, поскольку в нее входят вероятности редокс-состояний пар переносчиков $P(C_i^1 C_j^0)$, ... Аналогичным образом в уравнения для вероятностей редокс-состояний пар переносчиков $P(C_i^1 C_j^0)$,... будут также входить вероятности редокс-состояний троек переносчиков $P(C_i^0 C_j^0 C_k^0)$, ... и т. д. Ясно, что только уравнения для вероятностей редокс-состояний сразу всех m переносчиков, входящих в комплекс, будут замкнуты относительно величин $P(C_1^0 C_2^0 \ldots C_m^0)$, .. . , т. е. относительно вероятностей состояний комплекса как целого. Аналогичная цепочка уравнений имеет место в физической кинетике [Либов, 1974].

Очевидно, что, например, $P(C_1^0 C_2^0) = P(C_1^0 C_2^0 C_3^0) + P(C_1^0 C_2^0 C_3^1)$ и вообще

$$P(C_{i_1}^{0,1} C_{i_2}^{0,1} \ldots C_{i_k}^{0,1}) = P(C_{i_1}^{0,1} C_{i_2}^{0,1} \ldots C_{i_k}^{0,1} C_{i_{k+1}}^{0}) + P(C_{i_1}^{0,1} C_{i_2}^{0,1} \ldots C_{i_k}^{0,1} C_{i_{k+1}}^{1}) \quad (4.5)$$

Иначе говоря, вероятности редок-состояний меньшего числа *(k)* переносчиков $P(C_{i_1}^{0,1} C_{i_2}^{0,1} \ldots C_{i_k}^{0,1})$ выражаются через вероятности редокс-состояний большего числа (k+1) переносчиков $P(C_{i_1}^{0,1} C_{i_2}^{0,1} \ldots C_{i_k}^{0,1} C_{i_{k+1}}^{0,1})$.

В этих формулах $C_{i_s}^{0,1}$ означает, что i-й переносчик может находиться либо в окисленной, либо в восстановленной форме.

В силу соотношения (4.5) вероятности редокс-состояний большего числа переносчиков электронов несут в себе, всю информацию, содержащуюся в вероятностях редокс-состояний меньшего числа переносчиков. При этом, в результате рассмотрения вероятностей редокс-состояний сразу всех m переносчиков, входящих в комплекс, достигается наиболее полное описание переноса электронов в комплексах. При рассмотрении вероятностей редокс-состояний меньшего числа переносчиков информация сужается и описание огрубляется. Самое грубое описание переноса электронов в комплексах будет в том случае, когда при составлении уравнений оперируют лишь состояниями отдельных переносчиков.

Если число переносчиков электронов, входящих в комплекс, велико, то для описания функционирования такого комплекса с помощью небольшого числа переменных можно оборвать эту цепочку уравнений, т. е. выразить вероятности редокс-состояний k переносчиков через вероятности редокс-состояний меньшего числа переносчиков. Практически важно найти те физические условия, когда система дифференциальных уравнений (4.3) относительно вероятностей состояний всего комплекса в целом может быть сведена к системе дифференциальных уравнений, замкнутых относительно вероятностей редокс-состояний отдельных переносчиков. Такая необходимость вытекает из того, что в эксперименте регистрируются, как уже указывалось, главным образом состояния отдельных переносчиков, а не состояния комплекса, которые только и определяют скорость переноса электронов в комплексе.

4.2. Описание транспорта электронов через состояния отдельных переносчиков

В сущности, в отсутствие кооперативности в переносе электронов приближение вероятности состояний пары переносчиков $P(C_i^1 C_j^0)$ через вероятности состояний отдельных переносчиков $P(C_i^1)$, $P(C_j^0)$, $i \neq j$ дает возможность замкнуть рассмотренную выше цепочку уравнений и записать уравнения относительно вероятностей состояний отдельных переносчиков, составляющих комплекс [Шинкарев, 1978; Венедиктов и др., 1980б]. Любое такое приближение

$$P(C_i^1 C_j^0) \cong f(P(C_i^1), P(C_j^0)) \equiv f(x_1, x_2) \qquad (4.6)$$

для всей области изменений x_1, x_2 должно удовлетворять следующим условиям: 1) $0 \leq f(x_1,x_2) \leq 1$ при $0 \leq x_1, x_2 \leq 1$; 2) $f(0,x_2) = f(x_1,0) = 0$; 3) $f(x_1,x_2)$ — монотонно возрастающая функция x_1 (x_2=const) и x_2 (x_1=const); $f(1, 1) = 1$.

Пояснения требуют только условия 2 и 3. Условие 2 означает, что скорость переноса электронов в комплексе от C_1 к C_2 должна быть равна 0, когда C_1 окислен или когда C_2 восстановлен. Условие 3 означает, что скорость переноса электрона между C_1 и C_2 возрастает, когда увеличиваются степень восстановленности C_1 и степень окисленности C_2. Легко видеть, что для всей области изменения переменных x_1 и x_2 линейная функция $f(x_1,x_2)=ax_1 + bx_2$ не удовлетворяет всем этим условиям, а из многочленов второго порядка $f(x_1,x_2)=a_1x_1^2+b_1x_1x_2+c_1x_2^2$ им удовлетворяет только функция

$$f(x_1,x_2)=x_1x_2 \tag{4.7}$$

Приближение (4.7) означает независимость редокс-состояний переносчиков C_1 и C_2 и эквивалентно применению закона действующих масс к описанию переноса электронов в комплексах. В этом смысле закон действующих масс является достаточно естественным приближением для описания переноса электронов в комплексах для всей области изменения переменных x_1 и x_2. Отметим, что если рассматривать не многочлены, а более широкий класс функций, то существуют приближения, например

$f(x_1,x_2)=\dfrac{2x_1x_2}{x_1+x_2}$, которые, быть может, являются более естественными, чем функция (4.7).

Таким образом, если редокс-состояния переносчиков электронов, входящих в комплекс, являются независимыми, т. е.

$$P(C_i^1C_j^0)=P(C_i^1)P(C_j^0)$$

то система уравнений (4.4) может быть сведена к следующей билинейной системе m дифференциальных уравнений, замкнутых относительно вероятностей редокс-состояний отдельных переносчиков:

$$\begin{aligned}\frac{dP(C_j^1,t)}{dt}&=\sum_{i\neq j}k_{ij}P(C_i^1)P(C_j^0)-\sum_{s\neq j}k_{js}P(C_j^1)P(C_s^0)+\\&+\sum_{q\neq j}m_{qj}P(C_j^0)-\sum_{r\neq j}m_{jr}P(C_j^1)\end{aligned} \tag{4.9}$$

Используемые здесь обозначения констант скорости полностью совпадают с таковыми в системе уравнений (4.4).

Система уравнений (4.9) формально применима и для случая, когда переносчики электронов $C_1,\ldots, C_m$ подвижны и взаимодействуют друг с другом согласно закону действующих масс. Следовательно, одна и та же система уравнений (4.9) соответствует двум рассмотренным ранее (см. главу 3) различным по своему физическому смыслу механизмам взаимодействия переносчиков электронов — в комплексе и в растворе. При совпадении начальных условий уравнения, основанные на законе действующих масс, дают в точности такое же решение для вероятностей редокс-состояний отдельных переносчиков, как и система линейных уравнений (4.3). Следовательно, различить эти два

способа взаимодействия переносчиков электронов при кинетическом рассмотрении можно только в том случае, когда редокс-состояния переносчиков, входящих в комплекс, зависимы. В связи с этим необходимо выяснить условия, при которых редокс-состояяия переносчиков электронов, входящих в комплекс, зависимы или независимы. Эти вопросы будут рассмотрены в следующем параграфе.

Существенным недостатком приближения, основанного на законе действующих масс, является нелинейность кинетических уравнений. Можно попытаться, отказавшись от справедливости условий 1 — 3 для всей области изменения переменных x_1 и x_2, получить линейные приближения и выяснить условия их применимости. Одним из простейших линейных приближений, позволяющих описывать перенос электронов в комплексах системой дифференциальных уравнений, замкнутых относительно вероятностей состояний отдельных переносчиков, является следующее

$$f(x_1,x_2) = x_1 \quad (f(x_1,x_2) = x_2)\ . \tag{4.10}$$

В приближении (4.10) вероятность редокс-состояний комплекса отождествляется с вероятностью редокс-состояний отдельных переносчиков электронов, составляющих комплекс. Это приближение справедливо тогда, когда в комплексе переносится лишь один электрон (одна «дырка»). Наиболее важным является случай «закрытого» комплекса, когда обменом электронами комплекса со средой на рассматриваемых отрезках времени переноса электрона внутри комплекса можно пренебречь, а начальные условия таковы, что только определенное число переносчиков находится в восстановленном состоянии. Весьма существен также случай, характерный для фотосинтеза — процесс темновой релаксации реакционного центра после возбуждения его короткой насыщающей вспышкой света [Венедиктов и др., 19806; Шинкарев, Рубин, 1981].

Рассмотрим «закрытый» комплекс, состоящий из m молекул переносчиков $C_1, \ldots, C_m$. Предположим, что на рассматриваемых временах в этом комплексе может находиться только один электрон. В результате реализуются только следующие состояния комплекса молекул-переносчиков:

$$\underset{(1)}{(C_1^1C_2^0C_3^0\ldots C_m^0)},\quad \underset{(2)}{(C_1^0C_2^1C_3^0\ldots C_m^0)},\ldots,\quad \underset{(m)}{(C_1^0C_2^0C_3^0\ldots C_{m\text{-}1}^0C_m^1)}$$

Каждое из этих состояний можно отождествить соответственно с восстановленными формами отдельных переносчиков, т. е. $C_1^1,\ C_2^0,\ldots,C_m^0$, и тогда

$$(C_1^1C_2^0C_3^0\ldots C_m^0) \leftrightarrow C_1^1,\ldots,\ (C_1^0C_2^0C_3^0\ldots C_{m\text{-}1}^0C_m^1) \leftrightarrow C_m^1 .$$

Это же относится к случаю, когда в электронтранспортной цепи находится только $(m — 1)$ электронов (одна «дырка»). Тогда

все сводится к следующим m состояниям комплекса: $(C_1^0 C_2^1 C_3^1 ... C_m^1), \ldots, (C_1^1 C_2^1 C_3^1 ... C_{m-1}^1 C_m^0)$, которые можно сопоставить соответственно с C_1^0, $C_2^0, ..., C_m^0$. Следовательно, вместо системы уравнений (4.3), описывающей переходы между различными состояниями комплекса, можно записать следующую систему линейных уравнений, замкнутых относительно вероятностей редокс-состояний отдельных переносчиков электронов

$$dp(t)/dt = K_1 p(t), \quad p(0) = b_1. \qquad (4.11)$$

Здесь вектор — столбец $p(t) = (p_1(t), ..., p_m(t))$; $p_i(t)$— вероятность того, что комплекс переносчиков находится в i-м состоянии или (что в данном случае одно и то же) вероятность того, что переносчик электронов C_i восстановлен (окислен). Матрица K_1 и начальные условия удовлетворяют предположению о наличии только одного электрона (одной «дырки») в комплексе.

Таким образом, когда в «закрытом» комплексе, состоящем из m переносчиков, находится только один электрон или одна «дырка» (m—1 электронов), общее число состояний комплекса, а следовательно и число уравнений, сразу уменьшается от 2^m до m. Перенос электронов в этом случае описывается уравнениями для мономолекулярных реакций [Пытьева и др., 1976; Рубин и др., 1977; Венедиктов и др., 1980b]. Вообще какие-либо ограничения числа электронов, находящихся в комплексе (например» путем изменения концентраций экзогенных доноров и акцепторов электронов, сдвига pH и т. п.), приводят к резкому уменьшению числа уравнений в системе (4.3).

В ряде случаев, однако, более удобным, чем описанное линейное приближение, является приближение

$$f(x_1, x_2) = min(x_1, x_2) \qquad (4.12)$$

Для него не выполнена первая часть условий 3, которая требует, чтобы монотонность соблюдалась по всей области изменения x_1 и x_2.

Согласно приближению (4.12) скорость переноса электронов между переносчиками C_1 и C_2 определяется состоянием того переносчика, который лимитирует транспорт электрона. Это приближение позволяет рассматривать только линейные уравнения относительно вероятностей состояний отдельных переносчиков, каждое из которых справедливо в ограниченной области фазового пространства. Очевидна связь предложенного приближения с методом лимитирующих факторов, предложенным Полетаевым [Гильдерман и др., 1970]. Для схемы переноса электронов между двумя одноэлектронными переносчиками C_1 и C_2, $\xrightarrow{k_1} C_1 \xrightarrow{k_2} C_2 \xrightarrow{k_3}$ можно записать следующие две системы

линейных дифференциальных уравнений для соответствующих областей фазового пространства

$$
\begin{aligned}
&dP(C_1^1)/dt = k_1(1-P(C_1^1)) - k_2P(C_2^1) \\
&dP(C_2^1)/dt = k_2P(C_1^1) - k_3P(C_2^1), \qquad P(C_1^1) \le P(C_2^0) \\
&dP(C_1^1)/dt = k_1(1-P(C_1^1)) - k_2(1-P(C_2^1)) \\
&dP(C_2^1)/dt = k_2(1-P(C_2^1)) - k_3P(C_2^1), \qquad P(C_1^1) \ge P(C_2^0)
\end{aligned}
\qquad (4.13)
$$

4.3. Независимость редокс-состояний переносчиков — условие применимости закона действующих масс

Независимость редокс-состояний переносчиков электронов, входящих в комплекс, при равновесии с резервуаром и отсутствии кооперативности в переносе электронов [Шинкарев, 1978; HIll, Chance, 1978; Венедиктов и др., 1980b].

Нетрудно видеть (подробнее, см. главу 5) , что если в переносе электронов нет кооперативности, то редокс-состояния отдельных переносчиков, входящих в комплекс, независимы при редокс-равновесии со средой (резервуаром), т. е.

$$P(C_i^1 C_j^0) = P(C_i^1)P(C_j^0). \qquad (4.14)$$

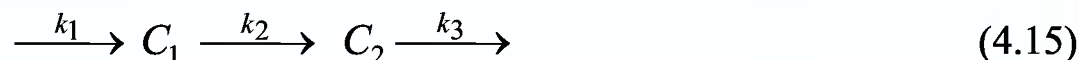
Действительно, условие, по которому кооперативность в переносе электронов отсутствует, позволяет выделить отдельные переносчики и считать, что степень их окисленности и восстановленности, устанавливающаяся при редокс-равновесии со средой, такая, как если бы каждый из переносчиков электронов в отдельности находился в равновесии со средой. Но в последнем случае их редокс-состояния независимы и определяются в соответствии с уравнением Нернста.

Таким образом, описанные выше два механизма, отличающиеся по типу взаимодействия молекул-переносчиков (перенос электронов в комплексе и в растворе), могут формально совпадать при достижении равновесия переносчиков электронов со средой. Система уравнений (4.3) линейна, и для небольшого числа переносчиков электронов ее можно эффективно сосчитать и применить вместо нелинейной системы уравнений (4.9) для описания функционирования подвижных переносчиков, находящихся в растворе, если только их редокс-состояния близки к равновесным. Вместе с тем нелинейная система уравнений (4.9) удобна для применения методов возмущений, в то время как система уравнений (4.3) в силу линейности, вообще говоря, непригодна для этих целей.

Зависимость редокс-состояний переносчиков, входящих в комплекс, в неравновесных условиях

Покажем, что в неравновесных условиях при наличии потока электронов через комплекс (в отсутствие кооперативности) не может реализоваться независимость редокс-состояний отдельных переносчиков и, следовательно, в этом случае для описания транспорта электронов в комплексе нельзя пользоваться нелинейными уравнениями типа (4.9).

Рассмотрим для простоты обозначений следующую схему неравновесного транспорта электронов в комплексе двух переносчиков ($k_i \neq 0$):

 (4.15)

В схеме (4.15) предполагается необратимость всех стадий переноса электронов.

Доказательство проведем от противного. Предположим, что в схеме (4.15) реализуется независимость редокс-состояний отдельных переносчиков, т. е. справедливо равенство (4.14), и в частности

$$P(C_i^1 C_j^0) = P(C_i^1)P(C_j^0). \qquad (4.16)$$

Тогда с одной стороны для вероятностей редокс-состояний отдельных переносчиков электронов была бы справедлива система нелинейных дифференциальных уравнений типа (4.9) :

$$\frac{dP(C_1^1,t)}{dt} = k_1 P(C_1^1) - k_2 P(C_1^1)P(C_2^0) \equiv k_1 P(C_1^1) - k_2 P(C_1^1 C_2^0)$$
$$\frac{dP(C_2^1,t)}{dt} = k_2 P(C_1^1)P(C_2^0) - k_3 P(C_2^1) \equiv k_2 P(C_1^1 C_2^0) - k_3 P(C_2^1) \qquad (4.17)$$

а с другой стороны, для вероятностей состояний комплекса всегда справедлива система уравнений типа (4.3):

$$\frac{dP(C_1^0 C_2^0,t)}{dt} = k_3 P(C_1^0 C_2^1) - k_1 P(C_1^0 C_2^0)$$
$$. \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \qquad (4.18)$$
$$\frac{dP(C_1^1 C_2^1,t)}{dt} = k_1 P(C_1^0 C_2^1) - k_3 P(C_1^1 C_2^1)$$

Дифференцируя по времени тождество (4.16)

$$\frac{dP(C_1^1 C_2^1,t)}{dt} = P(C_2^1)\frac{dP(C_1^1)}{dt} - P(C_1^1)\frac{dP(C_2^1)}{dt}$$

и выражая производные по времени вероятностей отдельных переносчиков из системы уравнений (4.17), получим следующее уравнение для изменения во времени вероятности $P(C_1^1 C_2^1)$:

$$\frac{dP(C_1^1 C_2^1,t)}{dt} = k_1 P(C_1^0 C_2^1) - k_3 P(C_1^1 C_2^1) + k_2 P(C_1^1 C_2^0)(P(C_1^1)\text{-}P(C_2^1)) \qquad (4.19)$$

Сравнивая полученное соотношение с последним уравнением системы (4.18), можно видеть, что равенство между ними воз-

можно только в том случае, когда либо $P(C_1^1 C_2^0) = 0$, либо $P(C_1^1) = P(C_2^1)$. Ни одно из этих равенств не реализуется в общем случае. Иначе говоря, условие независимости редокс-состояний отдельных переносчиков не согласовано с системой линейных дифференциальных уравнений (4.18). Выявленное противоречие свидетельствует о зависимости редокс-состояний отдельных переносчиков электронов в неравновесных условиях. Если при редоксравновесии состояния переносчиков электронов были обусловлены их взаимодействием с резервуаром, то в неравновесных условиях редокс-состояния переносчиков электронов определяются их взаимодействием не только с резервуаром, но и друг с другом (рис. 24).

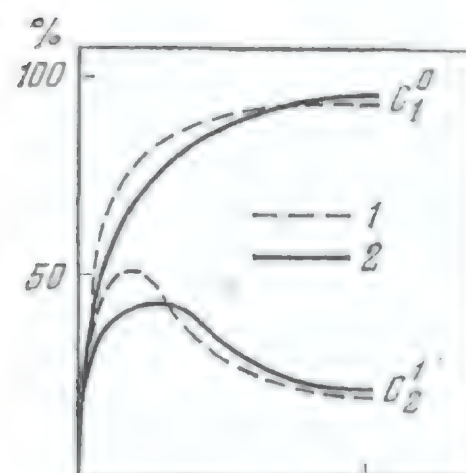


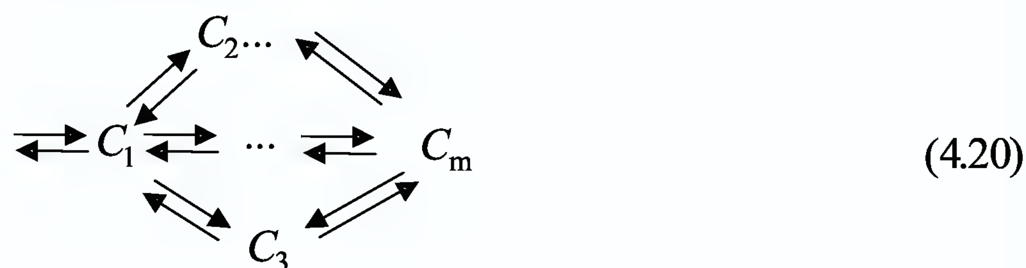
Рис. 24. Редокс-превращения переносчиков C_1 и C_2 в неравновесных условиях при взаимодействии их друг с другом согласно схеме (4.15)

1 — переносчики организованы в комплекс; *2* — переносчики взаимодействуют друг с другом согласно закону действующих масс $k_1 = 1,\ k_3 = 5,\ k_2 = \begin{cases} 0, & t < 0 \\ 10, & t > 0 \end{cases}$

Подводя итог сказанному, еще раз отметим, что при отсутствии кооперативности в переносе электронов независимость редокс-состояний переносчиков наблюдается при равновесии комплекса со средой (резервуаром). Редокс-состояния переносчиков электронов могут быть зависимы как в отсутствие равновесия, так и при наличии кооперативности в переносе электронов. Таким образом, закон действующих масс относительно окисленных и восстановленных форм отдельных переносчиков неприменим как при наличии кооперативности в переносе электронов, так и в неравновесных условиях. В этих случаях необходимо использовать описание, оперирующее с состояниями комплекса как целого.

4.4. Симметрия в переносе электронов

Рассмотрим произвольную схему переноса электронов между m переносчиками $C_1,..., C_m$.



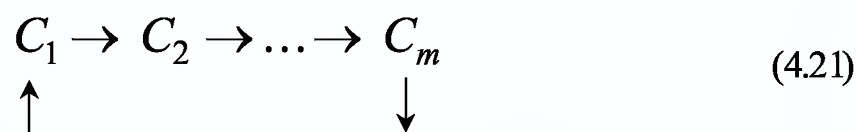
(4.20)

Для определенности все переносчики электронов будем считать одноэлектронными. Эта схема показывает, какой переносчик электронов с каким взаимодействует, но не отражает способа их взаимодействия (в комплексе или путем случайных столкновений). Для записи дифференциальных уравнений, описывающих транспорт электронов по этой схеме, нужно знать способ взаимодействия переносчиков. Однако существуют некоторые общие свойства, которые не зависят от типа взаимодействия, а обусловлены только топографией взаимодействия. Таким общим свойством является симметрия, характерная для большинства редокс-реакций в цепях электронного транспорта. Все виды симметрии, рассматриваемые ниже, связаны с симметрией либо исходной схемы переноса электронов, либо схемы, полученной с помощью замены окисленной формы переносчиков восстановленной, и наоборот.

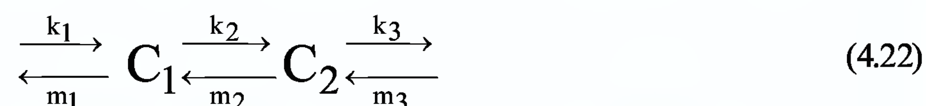
Наличие симметрии позволяет определить кинетические свойства переносчиков, непосредственно не наблюдаемых в эксперименте, исходя из свойств симметричных им переносчиков, исследуемых экспериментально. Симметрия может быть использована также для уменьшения числа необходимых вычислений и для проведения эффективной оценки вероятностей состояний комплекса.

Симметрия исходной схемы переноса электронов

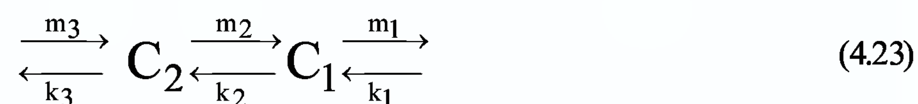
В ряде случаев легко указать преобразования, оставляющие инвариантным вид схемы реакции (графа). Так, для цикличе-


(4.21)

имеется, по крайней мере m различных преобразований (поворотов), оставляющих инвариантным вид схемы, а следовательно, и структуру соответствующей системы дифференциальных уравнений. Вследствие этого решение системы уравнений для восстановленной формы i-го переносчика может быть получено из решения для восстановленной формы j-го переносчика простой перестановкой констант скорости. Более сложным является пример симметрии в схеме взаимодействия двух переносчиков C_1 и


(4.22)

Ясно, что эта схема может быть записана в следующем


(4.23)

который получается из исходной схемы поворотом в плоскости

чертежа на 180°. Сравнивая полученную схему с исходной схемой (4.22), можно видеть, что имеется соответствие $C_1^1 \leftrightarrow C_2^1$ между восстановленными формами переносчиков, если сделать следующую перестановку констант скорости: $k_1 \leftrightarrow m_3$, $k_2 \leftrightarrow m_2$ $k_3 \leftrightarrow m_1$. Иными словами, чтобы получить выражение для восстановленной формы C_2, необходимо в формуле для восстановленной формы C_1 заменить k_1 на m_3, k_2 на m_2, а k_3 на m_1 и наоборот.

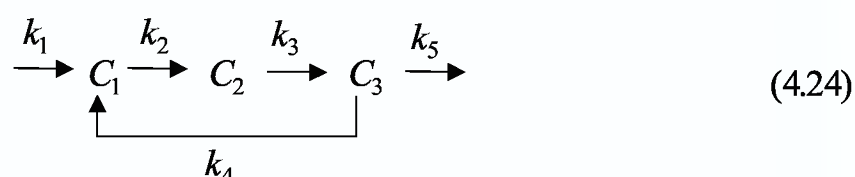
Таким образом, достаточно получить решение для восстановленной формы одного из переносчиков, поскольку решение для другого переносчика можно получить простой заменой констант скорости. Если переносчики электронов организованы в: комплекс, то указанное соответствие может быть прослежено и на графе состояний, соответствующем данной схеме.

Кинетическая двойственность между окисленной и восстановленной формами переносчиков электронов

Для широкого класса схем переноса электронов существует симметрия, отличающаяся от рассмотренной выше [Шинкарев,. 1978; Венедиктов и др., 1980б]. Она связана с тем, что перенос электрона в одном направлении эквивалентен переносу «дырки» в обратном направлении.

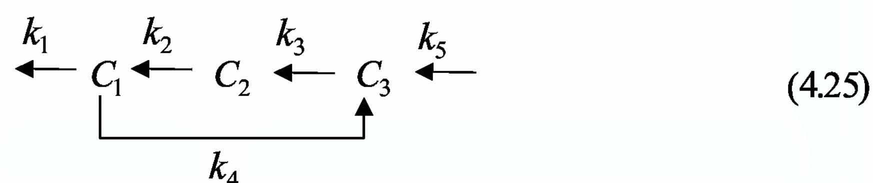
Обычно в схемах переноса электронов стрелками показывают направление движения электрона от одного переносчика к другому. При рассмотрении переноса «дырки», а не электрона, в исходной схеме необходимо направление всех стрелок поменять на противоположное. Если в результате такого преобразования получается схема, эквивалентная исходной, то, следовательно, сохраняется и структура соответствующей системы дифференциальных уравнений.

Поясним изложенное на примере следующей схемы, в которой предполагается отсутствие кооперативности в переносе электрона:



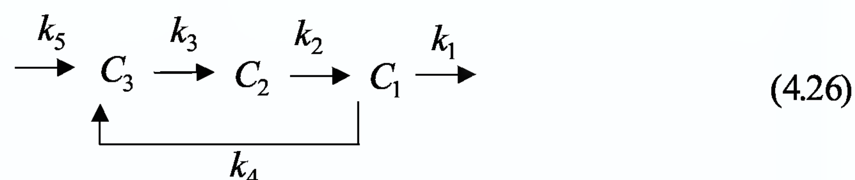
(4.24)

Изменив направление стрелок на обратное, мы тем самым запи-



(4.25)

Очевидно, что полученная схема эквивалентна исходной схеме (4.24), поскольку ее можно представить в следующем виде:



(4.26)

Отсюда вытекает, что структура решения для восстановленных форм переносчиков C_1, C_2, C_3 в схеме (4.24) совпадает со структурой решения для окисленных форм переносчиков C_3, C_2, C_1 в схеме (4.26) соответственно. Следовательно, решения для последних можно получить, если в соответствующих решениях для восстановленной формы переносчиков C_1, C_2, C_3 сделать следующую замену констант скорости: $k_5 \leftrightarrow k_1$, $k_3 \leftrightarrow k_2$. Сказанное относится как к случаю подвижных переносчиков, взаимодействующих друг с другом, согласно закону действующих масс, так и к случаю, когда переносчики электронов организованы в комплексы. При этом кинетическая двойственность справедлива только тогда, когда все переносчики электронов одновременно являются одноэлектронными, двухэлектронными и т. д.

Поскольку применение симметрии основано на замене констант скорости переноса электронов, постольку она имеет ценность лишь для схем переноса электронов с небольшим числом констант скорости (констант равновесия). В частности, особенно большое применение симметрия находит в схеме двух многоэлектронных переносчиков. Именно к такой схеме сводится кинетика переноса электронов у фотосинтезирующих бактерий [Шинкарев, 1978; Венедиктов и др., 1979а, б; Шинкарев и др., 1980].

Рассмотрим в качестве примера один переносчик, взаимодей-



$$\underset{m_1}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} C. \qquad (4.27)$$

Согласно сказанному выше вероятность окисленной формы этого переносчика может быть получена из вероятности восстановленной формы, если в выражении для последней заменить k_1 на m_1, а m_1 на k_1. Этот вывод особенно очевиден, если вместо схемы (4.27) рассмотреть схему переходов между состояниями перенос-



$$C^0 \underset{m_1}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} C^1. \qquad (4.28)$$

Если концентрация окисленной и восстановленной формы вещества, определяющего редокс-потенциал среды, не меняется существенно на рассматриваемых временах, то изменение во времени заселенности состояний C^0 и C^1 может быть записано в

$$P(C_1^0, t) = \frac{m_1}{m_1 + k_1} + \left[P(C_1^0, 0) - \frac{m_1}{m_1 + k_1} \right] e^{-(k_1 + m_1)t} \qquad (4.29)$$

$$P(C_1^1, t) = \frac{k_1}{m_1 + k_1} + \left[P(C_1^1, 0) - \frac{k_1}{m_1 + k_1} \right] e^{-(k_1 + m_1)t} \qquad (4.30)$$

Написанные выражения очень ярко характеризуют кинетичес-

кую двойственность в переносе электронов и показывают, что свойство симметрии затрагивает как начальные условия, так и переходный процесс, т. е. симметрия простирается и на область кинетики. Однако для стационарного режима ($t \to \infty$) в ряде случаев можно ограничиться рассмотрением только констант равновесия. Поясним в этой связи смысл кинетической двойственности для переносчика C в равновесии с средой. Как известно [см., например, Феттер, 1967], концентрация окисленной и восстановленной формы переносчика C в равновесии со средой определяется уравнением Нернста, которое для нашего случая можно записать в виде

$$P(C^0) = 1/(1+\exp(x)) = 1/(1+k_1/m_1), \qquad (4.31)$$

$$P(C^1) = 1/(1+\exp(-x)) = 1/(1+m_1/k_1), \qquad (4.32)$$

$$x = F(E_H - E_C)/(RT) = \ln(k_1/m_1),$$

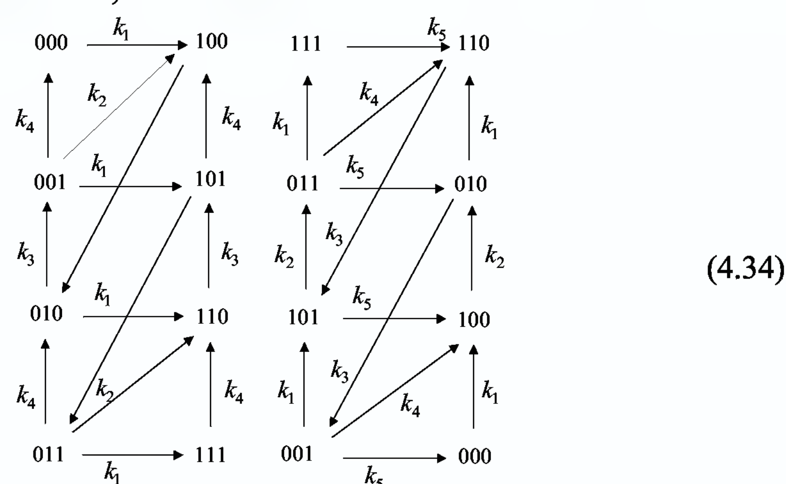
где E_C, E_H соответственно среднеточечный редокс-потенциал переносчика и редокс-потенциал среды, определяемый веществом (резервуаром), взаимодействующим с C; F — газовая постоянная, T — абсолютная температура, F — число Фарадея.

Если ввести обозначение $g(x) = \dfrac{1}{1+e^x} - 0.5$, то соотношения (4.31, 4.32) означают, что

$$g(x) = -g(-x) \qquad (4.33)$$

т. е. $g(x)$—нечетная функция. Таким образом, кинетическая двойственность в рассматриваемом случае (замена E_H—E_C на E_C —$E_н$) есть не что иное, как свойство симметричности кривой титрования [функции распределения (4.32)], наблюдаемое при соответствующем изменении системы координат (E_H—E_C на E_H—E_C).

В качестве другого примера кинетической двойственности рассмотрим вариант, когда переносчики электронов, взаимодействующие друг с другом согласно схеме (4.24), находятся в комплексе. В этом случае соответствие между схемами (4.24) и (4.26) переходит в соответствие графов (см. схему (4.34)). Здесь для краткости нулем и единицей обозначены окисленное и восстановленное состояния соответствующих переносчиков. Из сравнения графов на схеме (4.34) легко установить следующее соответствие между состояниями комплекса: 000↔111, 001↔011, 010↔101, 110↔100.



(4.34)

Как и в общем случае, для того чтобы из одного состояния комплекса получить симметричное ему состояние, необходимо пользоваться соответствием

$$C_1^0 \leftrightarrow C_3^1, \quad C_2^0 \leftrightarrow C_2^1, \quad C_1^1 \leftrightarrow C_3^0$$

В связи с таким соответствием при подсчете вероятностей состояний комплекса как в переходном процессе, так и в стационарных условиях можно ограничиться рассмотрением только одной половины симметричных состояний, получая решения для второй половины путем указанной ранее перестановки констант скорости.

На примере этой же схемы (4.34) видно, как сокращается число схем, когда одна из констант скорости обращается в нуль. Так, непосредственно из схемы (4.34) видно, что в случае $k_1 = 0$ и в случае $k_5=0$ получаются полностью эквивалентные друг другу схемы переноса электронов. Аналогично этому совпадают друг с другом схемы, для которых k_2 и k_3 (по отдельности) равны нулю. Сказанное позволяет существенно уменьшить число различных схем переноса электронов, которые необходимо анализировать аналитически.

В заключение отметим следующее важное обстоятельство. Поскольку структура решения исходной системы уравнений, например для C_1^0 совпадает с таковой для C_3^1, то, наблюдая за кинетическим поведением переносчика C_1 мы тем самым имеем возможность определить кинетическое поведение переносчика C_3 быть может, не наблюдаемого экспериментально. Кроме того, при моделировании электронтранспортных реакций можно ограничиться рассмотрением только части различных соотношений между константами скорости.

Заключение

Анализ, проведенный в данной главе, показывает, что в том случае, когда переносчики электронов находятся в редокс-равновесии со средой и отсутствует кооперативность в переносе электронов, предложенное вероятностное описание транспорта электронов в комплексе переносчиков может быть редуцировано к обычно применяемому закону действующих масс относительно окисленных и восстановленных форм отдельных переносчиков. Однако, если редокс-равновесие со средой нарушено, за счет чего появляется поток электронов через комплекс или имеет место кооперативность в переносе электронов, вероятностное описание может существенно отличаться от закона действующих масс. Иными словами, решения уравнений для двух физически различных механизмов взаимодействия по принципу «один на один» и «все на все» отличаются в неравновесных условиях и не отличаются в условиях редокс-равновесия со средой и отсутствия кооперативности в переносе электронов.

Поскольку перенос электронов в биологических системах но-

сит, как правило, неравновесный характер и, кроме того, в ряде случаев большую роль играют кооперативные эффекты, обусловленные взаимным влиянием переносчиков электронов друг на друга, то традиционно используемый кинетический закон действующих масс относительно объемных концентраций окисленных и восстановленных форм отдельных переносчиков становится неприменимым для анализа переноса электронов в комплексах. В этом случае необходимо использовать описание, оперирующее состояниями комплекса молекул-переносчиков как целого.

Глава 5

ТЕРМОДИНАМИКА РЕДОКС-РЕАКЦИЙ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

Выше мы рассмотрели влияние объединения переносчиков электронов в комплексы на кинетику транспорта электронов. Такое объединение может приводить и к тому, что изменение состояния любого из переносчиков может изменить характер переноса электронов в комплексе (эффект кооперативности). Взаимодействие переносчиков электронов в ряде случаев обусловливает отличие термодинамических характеристик электронного транспорта в комплексах от таковых для переноса электронов между подвижными переносчиками.

Ниже рассмотрены некоторые вопросы, касающиеся определения термодинамических характеристик переносчиков электронов, организованных в комплекс.

5.1. Сравнение равновесных характеристик переноса электронов

Как уже указывалось ранее, в биологических системах существуют, по крайней мере, два способа взаимодействия переносчиков электронов друг с другом. Если переносчики электронов достаточно подвижны, чтобы взаимодействовать друг с другом посредством соударений, кинетика переноса электронов может быть описана на основе закона действующих масс, согласно которому скорость реакции пропорциональна произведению концентраций реагирующих веществ. Существенно, что в этом случае перенос электронов представляет собой бимолекулярную реакцию и определяется объемными концентрациями отдельных переносчиков электронов. Соответственно этому и термодинамические параметры электронтранспортных процессов также определяются объемными концентрациями переносчиков.

Если же переносчики электронов находятся в комплексах, внутри которых задана строгая последовательность их взаимо-

действия друг с другом, то они могут взаимодействовать лишь в том случае, когда они находятся в одном и том же комплексе. При этом перенос электронов между ними является уже мономолекулярным процессом.

Суммарная скорость переноса электронов между переносчиками C_1 и C_2 пропорциональна концентрации комплексов, находящихся в состоянии $C_1^1C_2^0$, в котором C_1 восстановлен, а C_2 окислен:

$$V_{C_1 \to C_2} \sim [C_1^1C_2^0]. \tag{5.1}$$

Интересен вопрос о соотношении равновесных термодинамических характеристик переносчиков электронов, организованных в комплексы и переносчиков электронов, взаимодействующих друг с другом согласно закону действующих масс. В этом параграфе, если не оговорено противное, будем предполагать, что кооперативность в переносе электронов отсутствует.

Рассмотрим n одноэлектронных переносчиков электронов C_1, C_2, . . . , C_n, находящихся в редокс-равновесии со средой (D). Поскольку несущественно, каким путем устанавливается редокс-равновесие комплекса со средой, то для простоты вычислений будем считать, что непосредственно со средой взаимодействует лишь первый переносчик:

$$D \underset{m_1}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} C_1 \underset{m_2}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} C_2 \underset{m_3}{\overset{k_3}{\rightleftarrows}} \ldots \underset{m_n}{\overset{k_n}{\rightleftarrows}} C_n. \tag{5.2}$$

Здесь k_1, m_1 — псевдомономолекулярные константы скорости, пропорциональные концентрации восстановленной $(k = k_1'[D^1])$ и окисленной $(m = m_1'[D^0])$ формы вещества D, определяющего редокс-потенциал среды; k_i, m_i (i = 2, 3, . . . , n) — константы скорости соответствующих стадий переноса электронов.

Рассмотрим редокс-равновесие переносчиков электронов C_1, C_2, . . ., C_n со средой и сравним зависимость их степени восстановленности от величины констант скорости k_i, m_i для различных типов взаимодействия переносчиков электронов друг с другом.

1. Пусть переносчики электронов C_1, C_2,..., C_n являются подвижными и взаимодействуют между собой согласно закону действующих масс. Тогда в предположении равенства общих концентраций переносчиков C_1,...,C_n друг другу, для долей их окисленных и восстановленных форм справедлива следующая система n **нелинейных** алгебраических уравнений (см. гл. 3):

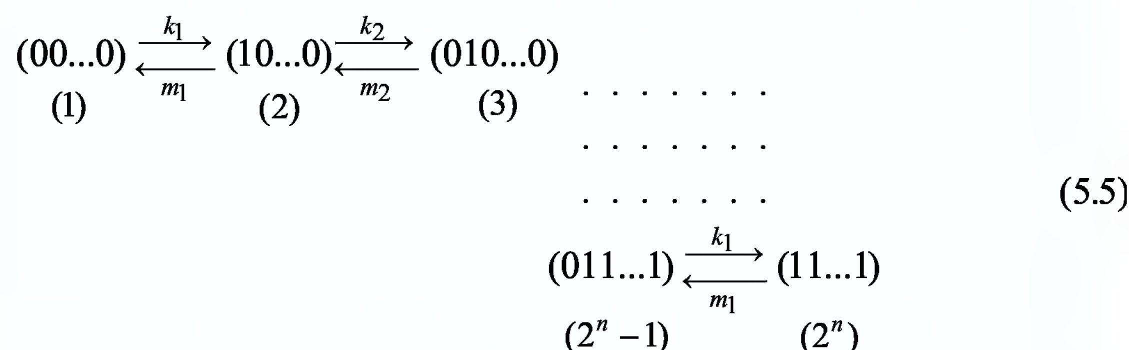
$$\begin{aligned} &-k_1(1-y_1)+m_1y_1=0, \\ &(k_1+m_2y_2)(1-y_1)-(m_1+k_2(1-y_2))y_1=0, \\ &. \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \\ &k_ny_{n-1}(1-y_n)-m_ny_n(1-y_{n-1})=0, \end{aligned} \tag{5.3}$$

где $1 - y_i$ (y_i) — доля i-го переносчика электронов (i=1, 2, ..., n), находящегося в окисленной (восстановленной) форме. Псевдомономолекулярные константы скорости k_i, m_i (i = 2, 3, . . . , n) определены равенствами $k_i = k_i' N$, $m_i = m_i' N$, где k', m' — бимолекулярные константы скорости соответствующих стадий переноса электронов, N — число молекул C_i в единице объема. Решая эту систему уравнений относительно отношения долей окисленной и восстановленной форм i-го переносчика, получим

$$\frac{1-y_i}{y_i} = 1/l_1 l_2 \cdot ... \cdot l_i \qquad (5.4)$$

$$l_r = \frac{k_r}{m_r}$$

2. Пусть переносчики электронов C_1 C_2, . . . , C_n находятся в комплексе и отсутствует кооперативность в переносе электронов. В этом случае k_i, m_i (i = 2, 3, . . . , n) — истинно мономолекулярные константы скорости переноса электронов внутри комплекса. Размеченный граф состояний, соответствующий схеме (5.3),



(5.5)

Здесь индекс 0 или 1 на определенном месте означает, что соответствующий переносчик электронов окислен (восстановлен). Цифры в скобках означают номер состояний. Для равновесных вероятностей состояний комплекса pi (i=1—2") можно записать соответствующую схеме (5.5) систему **линейных** алгебраических уравнений (см. гл. 3):

$$\begin{aligned} &-k_1 p_1 + m_1 p_2 = 0, \\ &-(m_1 + k_2) p_2) + k_1 p_1 + m_2 p_3 = 0, \\ &. \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \\ &-m_1 p_{2^n} + k_1 p_{2^{n-1}} = 0. \end{aligned} \qquad (5.6)$$

Решение этой системы линейных уравнений определено с точностью до множителя, т. е. определены лишь отношения вероятностей p_i, например, к вероятности первого состояния:

$$p_i = \alpha_i p_1 \quad (i=1, ..., 2^n). \qquad (5.7)$$

Рассмотрим более подробно, каким образом найти, коэффициен-

ты α_i. Пусть, например, имеется состояние комплекса S со следующим распределением (q-электронов по переносчикам C_1, ...

$$S = (C_{i_1}^1 C_{i_2}^1 C_{i_3}^1 \dots C_{i_q}^1),$$

где индексы i_1, i_2, i_3 ,..., i_q указывают номера восстановленных переносчиков электронов. Тогда вероятность этого состояния с учетом принципа детального равновесия [Волькенштейн, 1978; см. также гл. 6] может быть следующим образом выражена через вероятность первого состояния:

$$P(S) = (l_1 l_2 \dots l_{i_q})(l_1 l_2 \dots l_{i_q}) \cdot \dots \cdot (l_1 l_2 \dots l_{i_q})(l_1 l_2 \dots l_{i_q}). \quad (5.8)$$

Здесь первый сомножитель, взятый в скобки, соответствует переносу первого электрона от среды на i_q-е место. Второй сомножитель, взятый в скобки, соответствует переносу второго электрона от среды на i_{q-1}-е место и т. д. Последний сомножитель, взятый в скобки, соответствует переносу q-го электрона на i_1-е место. Таким образом, зная распределение электронов по переносчикам, легко по указанному правилу сразу написать величину коэффициента α_i.

Чтобы найти интересующее нас отношение $P(C_i^0)P(C_i^1)$, выразим вероятность восстановленной и окисленной форм i-го переносчика электронов через вероятности состояний комплекса p_i.

$$\frac{P(C_i^0)}{P(C_i^1)} = \frac{P(C_1^0 \dots C_i^0 \dots C_n^0) + \dots + P(C_1^1 \dots C_{i-1}^1 C_i^0 C_{i+1}^1 \dots C_n^1)}{P(C_1^0 \dots C_{i-1}^0 C_i^1 C_{i+1}^0 \dots C_n^0) + \dots + P(C_1^1 \dots C_{i-1}^1 C_i^1 C_{i+1}^1 \dots C_n^1)} \quad (5.9)$$

Поскольку в этой формуле вероятность каждого состояния комплекса, находящуюся в числителе, можно в знаменателе сопоставить с вероятностью состояния комплекса, отличающегося от такового в числителе лишь состоянием i-го переносчика, то в силу формулы (5.8) можно записать:

$$P(C_1^0 \dots C_{i-1}^0 C_i^1 C_{i+1}^0 \dots C_n^0) = (l_1 l_2 \dots l_i) P(C_1^0 \dots C_{i-1}^0 C_i^0 C_{i+1}^0 \dots C_n^0)$$

$$P(C_1^1 C_2^0 \dots C_{i-1}^0 C_i^1 C_{i+1}^0 \dots C_n^0) = (l_1 l_2 \dots l_i) P(C_1^1 C_2^0 \dots C_{i-1}^0 C_i^0 C_{i+1}^0 \dots C_n^0) \quad (5.10)$$

. . . .

$$P(C_1^1 \dots C_{i-1}^1 C_i^1 C_{i+1}^1 \dots C_n^1) = (l_1 l_2 \dots l_i) P(C_1^1 C_2^1 \dots C_{i-1}^1 C_i^0 C_{i+1}^1 \dots C_n^1)$$

В левых частях этих равенств находятся вероятности состояний, фигурирующие в знаменателе выражения (5.9), а в правых частях — вероятности соответствующих им состояний, имеющихся в числителе выражения (5.9). Следовательно, вынося общий множитель $(l_1 l_2 \dots l_i)$ в знаменателе выражения (5.9) и сокращая

оставшиеся одинаковые члены, получим

$$P(C_i^0)/P(C_i^1) = 1/(l_1 l_2 ... l_i) \tag{5.11}$$

Это выражение полностью совпадает с таковым для подвижных переносчиков.

Таким образом, редокс-титрование переносчиков электронов (зависимость $P(C_i^0)/P(C_i^1)$ от l_1, организованных в комплекс (в отсутствие кооперативности), и подвижных переносчиков дает один и тот же результат. И это, несмотря на то, что системы уравнений, соответствующие этим двум случаям, существенно отличаются друг от друга; в первом случае это система n нелинейных уравнений, а во втором случае это система 2^n линейных уравнений. Совпадение результатов редокс-титрования переносчиков электронов в комплексе и в растворе есть простое следствие независимости редокс-состояний переносчиков электронов, входящих в комплекс, наблюдаемое при редокс-равновесии со средой [Шинкарев, 1978; Hill, Chance, 1978; Венедиктов и др., 1980б]. Причем обычно разность нормальных (среднеточечных) редокс-потенциалов переносчиков и вещества D, определяющего редокс-потенциал среды, характеризует константы равновесия переносчиков со средой, а разность нормальных редокс-потенциалов переносчиков — константу равновесия переноса электронов между ними.

Как мы покажем далее, при кооперативном характере переноса электронов равновесно определяемых величин нормальных редокс-потенциалов отдельных переносчиков уже, вообще говоря, недостаточно для того, чтобы характеризовать перенос электронов в комплексах.

Покажем, что действительно в отсутствие кооперативности в переносе электронов редокс-состояния переносчиков электронов, входящих в комплекс, попарно независимы, т. е.

$$P(C_i^0 C_j^0) = P(C_i^0)P(C_j^0), \quad P(C_i^0 C_j^1) = P(C_i^0)P(C_j^1),$$
$$P(C_i^1 C_j^1) = P(C_i^1)P(C_j^1), \quad (i \neq j) \tag{5.12}$$

Предварительно отметим, что из сопоставления выражений (5.8) и (5.11) вытекает следующее соотношение:

$$\frac{P(C_i^0 C_j^0)}{P(C_i^0 C_j^1)} = \frac{P(C_j^0)}{P(C_j^1)}. \tag{5.13}$$

С учетом этого соотношения, например, для $P(C_i^0 C_i^1)$ имеем

$$\frac{P(C_i^0)P(C_j^1)}{P(C_i^0 C_j^1)} = P(C_j^1)\left[\frac{P(C_i^0 C_j^1) + P(C_i^0 C_j^0)}{P(C_i^0 C_j^1)}\right] =$$
$$= P(C_j^1)\left[1 + \frac{P(C_j^0)}{P(C_j^1)}\right] = P(C_j^1) + P(C_j^0) = 1. \tag{5.14}$$

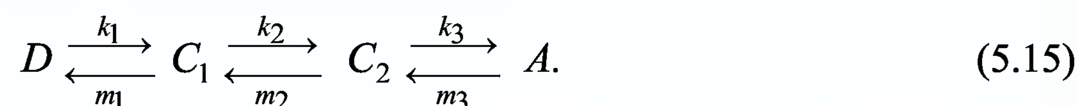
Таким образом, действительно наблюдается попарная независимость редокс-состояний отдельных переносчиков электронов при равновесии со средой. Аналогично можно доказать и независимость в совокупности редокс-состояний отдельных переносчиков электронов. Существенно отметить, что этот результат получен для случая, когда отсутствует кооперативность в переносе электронов.

5.2. О влиянии кооперативности в переносе электронов на кривые редокс-титрования

Одним из эффективных методов исследования функциональной организации цепей электронного транспорта, позволяющих определить редокс-потенциалы и последовательность расположения переносчиков в ЦЭТ, является редокс-титрование, в результате которого определяется зависимость степени окисленности (восстановленности) переносчиков электронов от редокс-потенциала среды [Dutton, Wilson, 1974; Ленинджер, 1974; Dutton, Prince, 1978; Prince, Dutton, 1978; Waltz, 1979]. Вместе с тем при рассмотрении результатов редокс-титрования переносчиков электронов, составляющих единый комплекс, необходимо учитывать влияние редокс-состояния одного из переносчиков на редокс-состояние другого.

Экспериментально кооперативность в переносе электронов была обнаружена для комплексов молекул переносчиков электронов как при дыхании [Malström, 1973; Nicolson, Peterson, 1974; Wikström et al., 1976; Babcock et al., 1978; Wikström et al., 1981], так и при фотосинтезе [Pellin et al., 1978]. Ниже приведен простейший пример равновесного кооперативного переноса электронов в комплексе двух одноэлектронных переносчиков. Несколько иной подход к рассматриваемой проблеме можно найти в ряде других работ [Malström, 1973; Waltz, 1979; Wikström et al., 1981].

Пусть одноэлектронные переносчики C_1 и C_2 взаимодействуют друг с другом согласно схеме

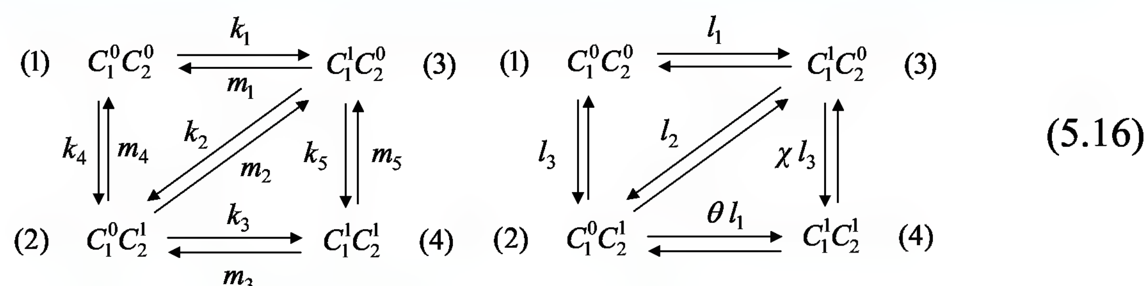


$$D \underset{m_1}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} C_1 \underset{m_2}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} C_2 \underset{m_3}{\overset{k_3}{\rightleftarrows}} A. \qquad (5.15)$$

Если переносчики электронов C_1 и C_2 организованы в комплекс, и имеет место кооперативность в переносе электронов, то редокс-равновесие каждого переносчика со средой зависит от состояния соседнего с ним переносчика. Иными словами, в этом случае необходимо рассматривать два различных типа редокс-равновесия переносчиков электронов со средой: в условиях, когда соседний переносчик электронов окислен, и в условиях, когда соседний переносчик электронов восстановлен. Соответственно этому необходимо рассматривать не только состояния данного переносчика электронов, но и редокс-состояния взаимодействующего с ним переносчика, т. е. состояния комплекса как целого и перехо-

ды между состояниями комплекса как таковыми [Malström, 1973; Wikström et al., 1976].

В условиях редокс-равновесия комплекса со средой (при отсутствии потока электронов через комплекс) его функционирование определяется лишь константами равновесия соответствующих переходов. Поэтому для анализа кооперативного взаимодействия переносчиков электронов достаточно ограничиться графом состояний комплекса



(5.16)

где указанные константы равновесия определены следующим образом:

$$l_1 = k_1/m_1,\ \theta\ _1 = k_3/m_3,\ l_3 = k_4/m_4,\ \chi\ _3 = k_5/m_5,\ l_2 = k_2/m_2. \quad (5.17)$$

Очевидно, что константы равновесия l_1, θl_1 и l_3, χl_3 зависят от соотношения концентраций окисленной и восстановленной форм донора D и акцептора A соответственно, а константа равновесия l_2 внутрикомплексного переноса электронов не зависит от этого отношения.

Необходимо отметить, что в условиях редокс-равновесия комплекса со средой введенные константы равновесия функционально связаны друг с другом. Действительно, редокс-равновесие комплекса со средой означает отсутствие потока электронов через комплекс вследствие того, что редокс-потенциалы донора D и акцептора A равны между собой. Следовательно, в этих условиях (максимальная) работа по переносу электрона внутри комплекса $C_1^0C_2^1 \rightleftarrows C_1^0C_2^1$ равна сумме работ переноса электрона от донора в комплекс $D^1 + C_1^0C_2^1 \rightleftarrows D^0 + C_1^1C_2^1$, а затем от комплекса к акцептору A $C_1^1C_2^1 + A^0 \rightleftarrows C_1^1C_2^0 + A$. Иначе говоря, работа, совершаемая вдоль цикла 3→2→4→3, на схеме (5.16) равна 0. Аналогично этому работа по переносу электрона по любому циклу на схеме (5.16) равна 0 или, что то же самое, произведение констант равновесия по любому циклу равно единице. В частности, можно записать следующие равенства, связывающие константы равновесия друг с другом:

$$(l_1l_2)/l_3 = 1 \text{ для цикла } 1\to3\to2\to1, \quad (5.18)$$

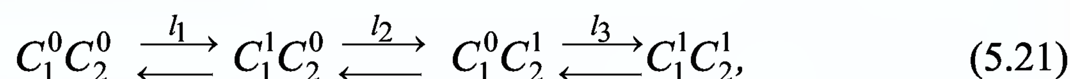
$$(l_2\theta\, l_1)/\chi l_3 = 1 \text{ для цикла } 3\to2\to4\to3. \quad (5.19)$$

При сравнении выражений (5.18) и (5.19) очевидно, что

$$\chi = 0. \tag{5.20}$$

Таким образом, в условиях редокс-равновесия со средой комплекса, состоящего из двух переносчиков, имеется лишь один параметр, который характеризует степень кооперативности в переносе электронов.

Величины равновесных вероятностей состояний комплекса не зависят от того, что оба переносчика электронов или только один из них непосредственно взаимодействуют со средой. В частности, эти равновесные вероятности могут быть рассчитаны на основании схемы



$$C_1^0 C_2^0 \underset{\longleftarrow}{\overset{l_1}{\longrightarrow}} C_1^1 C_2^0 \underset{\longleftarrow}{\overset{l_2}{\longrightarrow}} C_1^0 C_2^1 \underset{\longleftarrow}{\overset{l_3}{\longrightarrow}} C_1^1 C_2^1, \tag{5.21}$$

которая соответствует следующему редокс-равновесию переносчиков электронов C_1 и C_2 со средой $D \rightleftarrows C_1 \rightleftarrows C_2$. Решая линейные алгебраические уравнения относительно вероятностей состояний комплекса p_j, соответствующие условиям равновесия на схеме (5.21)

$$l_1 p_1 = p_3,\ l_2 p_3 = p_2,\ \ \theta\, l_1 p_2 = p_4,\ \ \sum_{i=1}^{4} p_i = 1, \tag{5.22}$$

получим

$$p_1 = 1/(1 + l_1 + l_1 l_2 + \theta\, l_1 l_2) = 1/\rho$$

$$p_3 = l_1/\rho, \quad p_2 = l_1 l_2/\rho, \quad p_2 = \theta\, l_1^2 l_2/\rho, \tag{5.23}$$

Заметим, что экспериментально наблюдаемыми величинами являются, как правило, не состояния комплекса переносчиков, а лишь состояния отдельных переносчиков электронов, образующих комплекс. Поэтому необходимо от вероятностей состояний комплекса перейти к вероятностям состояний переносчиков.

Исходя из схемы (5.21) и соотношений (5.23) найдем, что вероятности восстановленной формы первого и второго переносчиков электронов равны:

$$P(C_1^1) = p_3 + p_4 = \frac{l_1(1 + l_2 \theta\, l_1)}{1 + l_1 + l_1 l_2 + \theta\, l_1^2 l_2}, \tag{5.24}$$

$$P(C_2^1) = p_2 + p_4 = \frac{l_1 l_2 (1 + \theta\, l_1)}{1 + l_1 + l_1 l_2 + \theta\, l_1^2 l_2}, \tag{5.25}$$

Полученные уравнения определяют зависимость вероятностей редокс-состояний переносчиков электронов C_1 и C_2 от величины константы равновесия l_1, характеризующей редокс-потенциал среды, а значит, описывают кривые редокс-титрования переносчиков C_1 и C_2. Обычно для расчета кривых титрования используют величины констант равновесия, выраженные через редокс-

потенциал среды на основании уравнения Нернста:

$$l_1 = exp\left(\frac{E^1_{C_1} - E_H}{RT} F\right), \quad \theta\, l_1 = exp\left(\frac{E^2_{C_1} - E_H}{RT} F\right),$$

$$l_3 = exp\left(\frac{E^1_{C_2} - E_H}{RT} F\right), \quad \theta\, l_3 = exp\left(\frac{E^2_{C_2} - E_H}{RT} F\right),$$

$$l_2 = exp\left(\frac{\Delta E}{RT} F\right). \tag{5.26}$$

Здесь E_H— редокс-потенциал среды, определяемый донором D и (или) акцептором A; F — число Фарадея; R — газовая постоянная. $E^1_{C_i}$ ($E^2_{C_i}$) при i=1,2 есть нормальный редокс-потенциал i-го переносчика, полученный в предположении, что соседний переносчик окислен (восстановлен); ΔE — величина, определяемая равенством

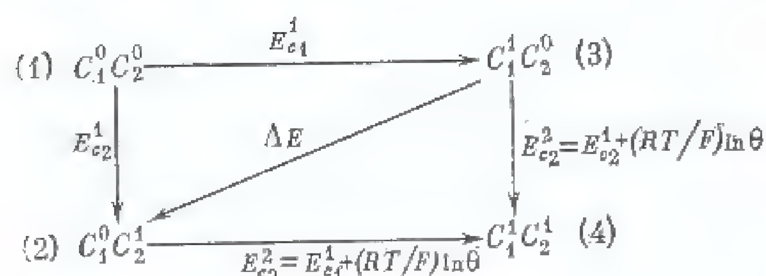
$$\Delta E = \frac{RT}{F} ln\, l_2 . \tag{5.27}$$

С учетом соотношений (5.26) выражения (5.18) и (5.19) могут быть переписаны следующим образом:

$$E^1_{C_1} + \Delta E = E^1_{C_2}, \quad E^2_{C_1} + \Delta E = E^2_{C_2},$$

$$E^2_{C_1} - E^1_{C_1} = E^2_{C_2} - E^1_{C_2} = \frac{RT}{F} ln\,\theta . \tag{5.28}$$

Взаимоотношение между введенными величинами $E^1_{C_i}$, $E^2_{C_i}$, ΔE отражено на схеме



Приведенная схема показывает, с каким знаком необходимо брать введенные в (5.26) величины, чтобы получить соотношения (5.28).

Уравнения для кривых титрования переносчиков C_1 и C_2 могут быть представлены через редокс-потенциал среды и значения $E^1_{C_i}$, $E^2_{C_i}$, ΔE, если в соотношения (5.24) и (5.25) ввести величины, определяемые выражениями (5.26).

В отсутствие кооперативности в переносе электронов, когда θ=1 ($E^1_{C_i}$, $E^2_{C_i}$, i=1, 2), уравнения кривых титрования (5.24), (5.25) приобретают следующий вид:

$$P(C^1_1) = \frac{l_1}{l_1 + 1} \qquad \left(E_H = E^1_{C_1} + \frac{RT}{F} ln \frac{P(C^0_1)}{P(C^1_1)}\right), \tag{5.29}$$

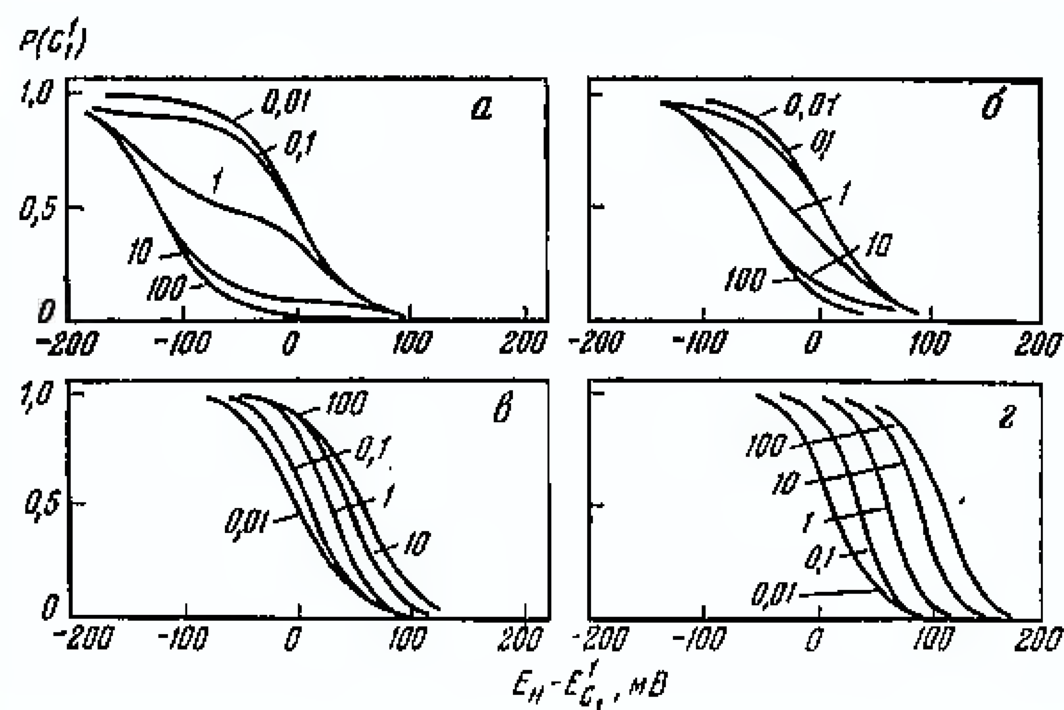


Рис. 25. Зависимость степени восстановленности первого переносчика электронов от редокс-потенциала среды, рассчитанная по уравнению (5.34) при различных значениях параметра кооперативности в переносе электронов θ

а — θ = 0,01; 6 — θ = 0,1; 8 — θ = 10; г —θ = 100. Цифры у кривых показывают величину константы равновесия l_2

$$P(C_2^1) = \frac{l_1 l_2}{l_1 l_2 + 1} \qquad \left(E_H = E_{C_2}^1 + \frac{RT}{F} \ln \frac{P(C_2^0)}{P(C_2^1)} \right), \tag{5.30}$$

Здесь в скобках восстановленность переносчиков представлена как функция редокс-потенциала среды $E_н$.

В случае если имеет место кооперативное взаимодействие переносчиков электронов, то кривые редокс-титрования переносчиков, входящих в комплекс, могут существенно отличаться от обычных кривых титрования, характерных для подвижных переносчиков электронов и определяемых уравнением Нернста (5.29), (5.30). На рис. 25 приведены теоретические кривые редокс-титрования восстановленной формы переносчика C_1 рассчитанные по уравнению (5.24) — при разных значениях параметра θ, характеризующего кооперативность в переносе электронов, и разных значениях константы равновесия l_2. Как видно на рисунке, кривые титрования в зависимости от величины этих параметров довольно разнообразны. Рассмотрим случаи, для которых кривые титрования приобретают особенно простой вид.

В общем случае нормированную кривую титрования восстановленной формы первого переносчика, определяемую уравнением (5.24), можно представить как сумму двух кривых титрования $l_1/(l_1+1)$ и $\theta\, l_1/(\theta(\theta_1+1)$, отвечающих переходам этого переносчика в «пустой»



$$C_1^0 C_2^0 \underset{\longleftarrow}{\xrightarrow{l_1}} C_1^1 C_2^0 \tag{5.31}$$

и «полной»



$$C_1^0 C_2^1 \underset{\longleftarrow}{\xrightarrow{\theta l_1}} C_1^1 C_2^1 \tag{5.32}$$

цепях со вкладами, зависящими от редокс-потенциала среды. Величина θ обусловливает сдвиг кривых титрования относительно друг друга на величину $(\mathrm{RT/F})\ln\theta$.

Действительно, по формуле полных вероятностей вероятность того, что, например, первый переносчик электронов восстановлен, может быть записана следующим образом:

$$\begin{aligned} P(C_1^1) &= P(C_1^1 C_2^0) + P(C_1^1 C_2^1) = \\ &= P(C_1^1/C_2^0)P(C_2^0) + P(C_1^1/C_2^1)P(C_2^1) \end{aligned} \tag{5.33}$$

где $P(C_1^1/C_2^0)$, $[P(C_1^1/C_2^1)]$ —условная вероятность того, что первый переносчик восстановлен, когда второй переносчик окислен (восстановлен). Поскольку вычисленная по схеме (5.31) [схеме (5.32)] условная вероятность того, что первый переносчик электронов восстановлен, когда второй переносчик окислен (восстановлен), дается выражением

$$\frac{l_1}{l_1+1} \qquad \left(\frac{\theta l_1}{\theta l_1+1}\right), \tag{5.34}$$

соотношение (5.33) может быть переписано *в* следующем виде [Венедиктов и др., 1980b]:

$$P(C_1^1) = \frac{l_1}{l_1+1} P(C_2^0) + \frac{\theta l_1}{\theta l_1+1} P(C_2^1). \tag{5.35}$$

Таким образом, кривая титрования восстановленной формы первого переносчика есть сумма двух кривых титрования этого переносчика в «пустой» и «полной» цепях со вкладами, равными вероятностям соответственно окисленной и восстановленной форм второго переносчика.

Аналогично этому для вероятности того, что второй переносчик восстановлен, можно записать

$$P(C_2^1) = \frac{l_1 l_2}{l_1 l_2+1} P(C_1^0) + \frac{\theta l_1 l_2}{\theta l_1 l_2+1} P(C_1^1). \tag{5.36}$$

Из выражений (5.35) и (5.36) вытекает следующее. Во-первых, для того, чтобы описать кривую титрования первого переносчика электронов, необходимо знать кривую титрования второго переносчика, и наоборот. Во-вторых, эта кривая, вообще говоря, не может быть представлена *в* виде суммы двух кривых титрования с постоянными коэффициентами

$$\alpha \frac{l_1}{l_1+1} + (1-\alpha)\frac{\theta l_1}{\theta l_1+1}. \tag{5.37}$$

В зависимости от величины параметра θ можно выделить следующие два случая. Если величина θ>1, то второй электрон переносится в комплекс от среды легче, чем первый, и тогда кривые титрования восстановленных форм переносчиков C_1 и C_2 сдвигаются в область более положительных редокс-потенциалов (рис. 25, *В, Г*). Если величина θ<1, то второй электрон переносится в комплекс от среды труднее, чем первый, и тогда кривые титрования восстановленных форм C_1 и C_2 сдвигаются в область более отрицательных редокс-потенциалов среды (рис. 25, *А, Б*).

Рассмотрим сначала случай, когда θ>1. Для количественного описания кривой титрования восстановленной формы первого переносчика можно выделить три интервала изменения величины констант равновесия $l_1 l_2$ и $\theta l_1 l_2$ (редокс-потенциала среды), внутри которых выражение (5.25) приобретает особенно простой вид (в скобках дано представление восстановленной формы через редокс-потенциал среды):

$$P(C_1^1) \approx \begin{cases} \dfrac{l_1}{l_1+1} & \left(E_H = E_{C_1}^1 + \dfrac{RT}{F}\ln\dfrac{P(C_1^0)}{P(C_1^1)}\right), \text{ если } l_1 l_2 < 1,\ \theta l_1 l_2 < 1 \quad \left(E_H < E_{C_2}^1, E_{C_2}^2\right) \\ \dfrac{\theta l_1^2 l_2}{\theta l_1^2 l_2 + 1} & \left(E_H = \dfrac{E_{C_1}^1 + E_{C_2}^2}{2} + \dfrac{RT}{2F}\ln\dfrac{P(C_1^0)}{P(C_1^1)}\right), \text{ если } l_1 l_2 < 1,\ \theta l_1 l_2 > 1 \quad \left(E_{C_2}^1 < E_H < E_{C_2}^2\right) \\ \dfrac{\theta l_1}{\theta l_1 + 1} & \left(E_H = E_{C_1}^2 + \dfrac{RT}{F}\ln\dfrac{P(C_1^0)}{P(C_1^1)}\right), \text{ если } l_1 l_2 > 1,\ \theta l_1 l_2 > 1 \quad \left(E_H > E_{C_2}^1, E_{C_2}^2\right) \end{cases} \tag{5.38}$$

Аналогично этому для описания кривой титрования восстановленной формы второго переносчика также можно выделить три интервала:

В случае, когда θ<1, имеем следующие приближенные выра-

жения для восстановленной формы первого и второго перенос-

$$
P(C_2^1) \approx \begin{cases} \dfrac{l_1 l_2}{l_1 l_2 + 1} & \left(E_H = E_{C_2}^1 + \dfrac{RT}{F} \ln \dfrac{P(C_2^0)}{P(C_2^1)} \right), \text{ если } \; l_1 < 1,\ \theta l_1 < 1 \quad \left(E_H < E_{C_1}^1, E_{C_1}^2 \right) \\ \dfrac{l_2}{l_2 + 1} & \left(\dfrac{RT}{F} \ln \dfrac{P(C_2^0)}{P(C_2^1)} = -\Delta E \right), \text{ если } \; l_1 < 1,\ \theta l_1 < 1 \quad \left(E_{C_1}^2 < E_H < E_{C_1}^1 \right) \\ \dfrac{\theta l_1 l_2}{\theta l_1 l_2 + 1} & \left(E_H = E_{C_2}^2 + \dfrac{RT}{F} \ln \dfrac{P(C_2^0)}{P(C_2^1)} \right), \text{ если } \; l_1 > 1,\ \theta l_1 > 1 \quad \left(E_H > E_{C_1}^1, E_{C_1}^2 \right) \end{cases} \tag{5.41}
$$

Из выписанных приближений и рис. 25 можно сделать вывод, что, только когда $\theta<1$, на кривых титрования переносчиков C_1 и C_2 возможно наличие двух «полуволн». Степень сдвига этих «полуволн» относительно друг друга зависит от величины θ, а их вклад определяется величиной l_2. В случае же $\theta>1$ полуволны отсутствуют, однако увеличивается тангенс угла наклона кривой титрования в средней точке (рис. 25, В и Г). Как это следует из уравнения (5.24), максимальный тангенс угла наклона кривой титрования в средней точке соответствует двухэлектронному уравнению Нернста.

Мы рассмотрели простейшую ситуацию, когда кооперативное взаимодействие двух переносчиков электронов изменяло их термодинамические характеристики. Вместе с тем взаимодействие переносчиков электронов может вызвать также изменение их спектров [см., например: Malström, 1973]. Это приводит к тому, что наблюдаемыми в эксперименте являются не редокс-состояния отдельных переносчиков, как это мы предполагали ранее, а только отдельные состояния комплекса — каждое со

своим коэффициентом экстинции. Так, например, если наблюдаемыми в эксперименте являются только третье и четвертое состояние - с коэффициентами экстинции ε_3 и ε_4 соответственно, то вместо формулы (5.24) необходимо писать величину, пропорциональную

$$\varepsilon_3 p_3 + \varepsilon_4 p_4 = \varepsilon_4(\varepsilon\varepsilon_3 + p_4) = \varepsilon_4 \frac{\varepsilon l_1 + \theta l_1^2 l_2}{1 + l_1 + l_1 l_2 + \theta l_1^2 l_2} \qquad (5.42)$$

где $\varepsilon = \varepsilon_3/\varepsilon_4$ — относительный коэффициент экстинции третьего и четвертого состояний. Из полученного соотношения можно видеть, что даже в случае, когда взаимодействие ферментов не приводит к изменению их энергетических характеристик (θ=1), но коэффициенты экстинции отдельных состояний не равны друг другу ($\varepsilon \neq 1$), возможно искажение равновесных кривых титрования. Ясно, что в общем случае, на длине волны λ, при которой коэффициент i-го состояния равен $\varepsilon_i(\lambda)$, наблюдаемая в эксперименте величина равна с точностью до нормирующего множителя:

$$\sum_{i=1}^{4} \varepsilon_i p_i = \frac{\varepsilon_1 + \varepsilon_2 l_1 l_2 + \varepsilon_3 l_1 l_2 + \varepsilon_4 \theta l_1^2 l_2}{1 + l_1 + l_1 l_2 + \theta l_1^2 l_2} \qquad (5.43)$$

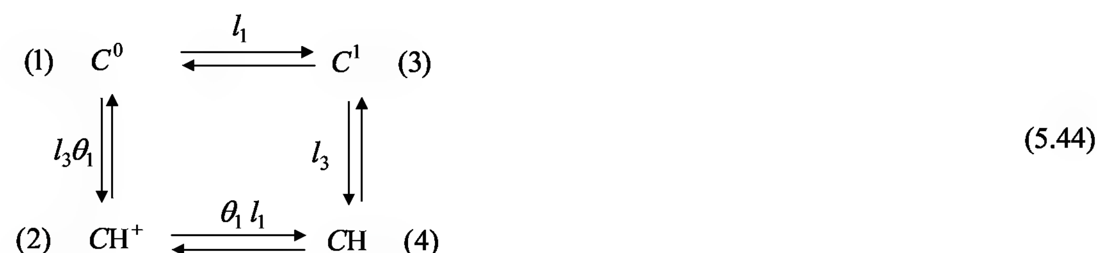
Совершенно очевидно, что в общем случае могут проявляться оба эффекта.

На самом деле ситуация еще сложнее, поскольку переносчики электронов помимо окислительно-восстановительных превращений могут также протонироваться, что приводит к зависимости потенциалов полувосстановления переносчиков от pH. Кроме того, переносчики электронов находятся в мембране и испытывают при своих превращениях влияние поверхностного и (или) трансмембранного электрических потенциалов [Hinkle, Mitchell, 1970; Takamiya, Dutton, 1977; Matsuura, Nishimura, 1978; Walz, 1979; Itoh, 1980]. Однако, в отличие от кооперативного взаимодействия двух и более переносчиков электронов, указанные факторы в простейшем случае не изменяют формы кривых титрования, а приводят к изменению наблюдаемого потенциала полувосстановления.

Зависимость потенциала полувосстановления от pH среды

Изложенная выше схема рассмотрения кооперативного взаимодействия переносчиков электронов может быть также без существенной модификации применена и для определения зависимости потенциала полувосстановления переносчика электронов от pH.

Рассмотрим одноэлектронный переносчик электронов, который может присоединить протон.



(5.44)

Здесь горизонтальные переходы соответствуют окислительно-восстановительным превращениям переносчика, а вертикальные — реакциям с участием протона.

Принимая во внимание равновесный характер превращений переносчика, можно не учитывать любой (один!) переход на этой



(5.45)

Решая систему линейных уравнений относительно стационарных вероятностей состояний, соответствующую схеме (5.45), несложно найти:

$$p_1 = 1/(1 + l_1 + l_1 l_3' H^+ + l_3' H^+/\theta_1) \equiv 1/\rho_1,$$
$$p_2 = l_3/\theta_1 \rho_1,\ p_3 = l_1/\rho_1, p_4 = l_1 l_3/\rho_1, \quad (5.46)$$
$$(l_3 \equiv l_3'[H^+],\ \ l_1 \equiv l_1'[D^-/[D^+]).$$

Откуда для отношения окисленной формы переносчика ($C°$ и CH^+) к восстановленной (C^1 и CH) получим следующее соотношение:

$$\frac{O}{B} = \frac{P(C^0) + P(CH^+)}{P(C^1) + P(CH)} = \frac{1 + l_3/\theta_1}{l_1(1 + l_3)} = \frac{1}{l_1 A} \quad (5.46)$$

В полученном выражении величина l_1 зависит от редокс-потенциала среды, в то время как величина $A = (1 + 1_3)/(1 + 1_3/\theta_1)$ зависит только от pH среды и от параметра θ_1. Логарифмируя соотношение (5.47) и учитывая выражение l_1 через редокс-потенциал среды (5.36), получим:

$$E_H = E + \frac{RT}{F} ln A + \frac{RT}{F} ln \frac{O}{B} = E_{cp} + \frac{RT}{F} ln \frac{O}{B}, \quad (5.48)$$

$E_{cp} = E + (RT/F) ln A$

полувосстановления переносчика, зависящий от pH, E — потенциал полувосстановления переносчика при $A = 1$.

Выражение (5.48) показывает, что протонирование переносчика электронов приводит только к смещению потенциала полувосстановления (среднеточечного потенциала), но не изменяет формы кривой титрования.

Зависимость наблюдаемого потенциала полувосстановления от pH определяется величиной коэффициента θ_1, характеризующего взаимосвязь между протонированием и окислительно-восстановительной реакцией. Рассмотрим эту зависимость более подробно. Если $\theta_1=1$, то отсутствует взаимосвязь между протонированием и окислительно-восстановительной реакцией и их можно рассматривать независимо одна от другой, т. е. наблюдается независимость редокс-состояний и состояний, отличающихся протонированием переносчиков. Если $\theta_1 >1$, то это означает, что протонирование способствует восстановлению переносчика. Это наиболее часто встречающийся тип взаимоотношения между протонированием переносчика и его окислительно-восстановительными превращениями. Обозначим

$$lg\, l_3' = pK_B, \qquad lg\left(l_3'/\theta_1\right) = pK_B \tag{5.49}$$

Напомним, что pK группы есть значение pH, при котором половина групп протонирована, а половина депротонирована. Через введенные величины выражение для наблюдаемого потенциала восстановления $E_{\text{ср}}$ имеет вид:

$$E_{cp} = E + \frac{RT}{F} ln\, A = E + \frac{2{,}3RT}{F} lg \frac{1+10^{pK_B\text{-}pH}}{1+10^{pK_O\text{-}pH}} \tag{5.50}$$

Из этого выражения следует, что $E_{\text{ср}}$ по-разному ведет себя в зависимости от того, больше ли pH обоих pK находится между ними или меньше их. Поскольку величина $\theta_1 >1$, то из равенств (5.49) имеем

$$pK_O < pK_B = pK_O + \lg(\theta_1). \tag{5.51}$$

Поэтому выражение (5.51) можно аппроксимировать следующим образом:

$$E_{\text{ср}} \approx \begin{cases} E, & pH > pK_B,\ pK_O \\ E + \dfrac{2.3RT}{F}(pK_B - pH), & pK_B > pH > pK_O \\ E + \dfrac{2.3RT}{F}(pK_B - pK_O) \equiv E + \dfrac{2.3RT}{F}\lg(\theta_1), & pH < pK_O,\ pK_B \end{cases} \tag{5.52}$$

Написанная формула говорит о том, что грубо зависимость наблюдаемого потенциала полувосстановления от pH может быть представлена как совокупность трех линейных зависимостей, как это показано на рис. 26. Таким образом, если параметр $\theta_1 >1$, то при повышении pH в интервале pK_O—pK_B происходит уменьшение наблюдаемого потенциала полувосстановления.

Если $\theta_1 <1$, то это означает, что протонирование препятствует восстановлению переносчика.

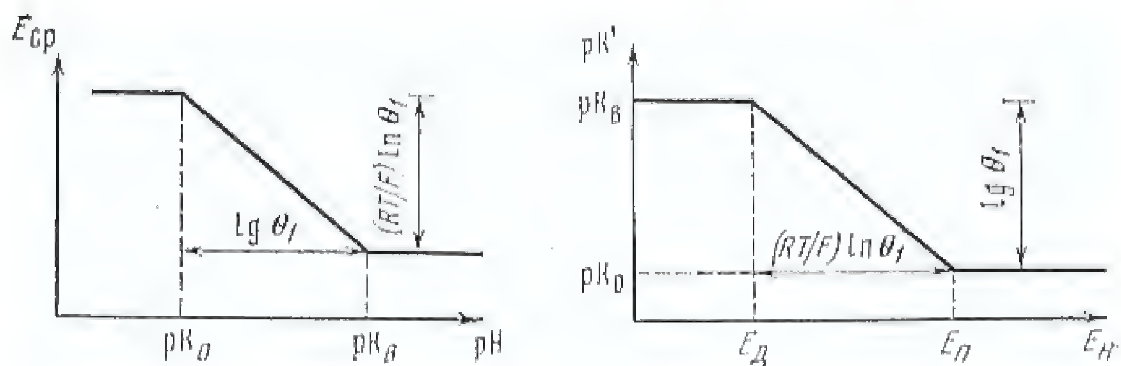


Рис. 26. Зависимость наблюдаемого потенциала полувосстановления переносчика электронов от pH среды, построенная исходя из выражения (5.52) для схемы переходов (5.44)

Рис. 27. Зависимость наблюдаемого pK переносчика электронов от редокс-потенциала среды, построенная исходя из выражения (5.58) для схемы переходов (5.44)

Ввиду симметрии в переносе электрона и протона на схеме (5.44) совершенно очевидно, что аналогично тому как среднеточечный редокс-потенциал зависит от pH среды, так и pK переносчика зависит от редокс-потенциала среды. Рассмотрим эту зависимость более подробно. Исходя из соотношений (5.46) имеем следующее выражение для отношения депротонированной (Д) и протонированной (П) форм

$$\frac{Д}{П} = \frac{P(C^0) + P(C^1)}{P(CH^+) + P(CH)} = \frac{\theta_1 (1 + l_1)}{l_3 (1 + l_1 \theta_1)} \qquad (5.53)$$

Логарифмируя это выражение, имеем

$$\lg \frac{Д}{П} = \text{pH} + \lg \frac{\theta_1 (1 + l_1)}{l_3 (1 + l_1 \theta_1)} \qquad (5.54)$$

Если параметр кооперативности θ_1 равен единице (кооперативность отсутствует), то уравнение (5.54) переходит в обычное уравнение Гендерсона — Хассельбалха [Ленинджер, 1974] для

$$\text{pH} = pK + \lg \frac{Д}{П} \qquad (5.55)$$

где $\text{pK} = \lg l_3'$.

Если же параметр кооперативности θ_1 не равен единице, то выражение (5.54) по-прежнему можно записать в виде формулы (5.55), но уже с величиной pK, зависящей от величины E_H (т. е. от величины l_1):

$$pK' = pK + \lg \frac{1 + l_1 \theta_1}{\theta_1 (1 + l_1)} \equiv pK + \lg \frac{\frac{1}{l_1 \theta_1} + 1}{\frac{1}{l_1} + 1}. \qquad (5.56)$$

Для того чтобы выяснить характер зависимости величины видимого значения рК' от редокс-потенциала среды, подставим в формулу (5.56) значение l_1 выраженное согласно формуле (5.26) через редокс-потенциал среды:

$$pK' = pK + \lg \frac{1 + e^{\frac{F(E_н - E_п)}{RT}}}{1 + e^{\frac{F(E_н - E_д)}{RT}}} \equiv pK + \lg \frac{1 + 10^{\frac{F(E_н - E_п)}{2,3RT}}}{1 + 10^{\frac{F(E_н - E_д)}{2,3RT}}} \qquad (5.57)$$

где величина $E_д$ есть среднеточечный потенциал депротониро-

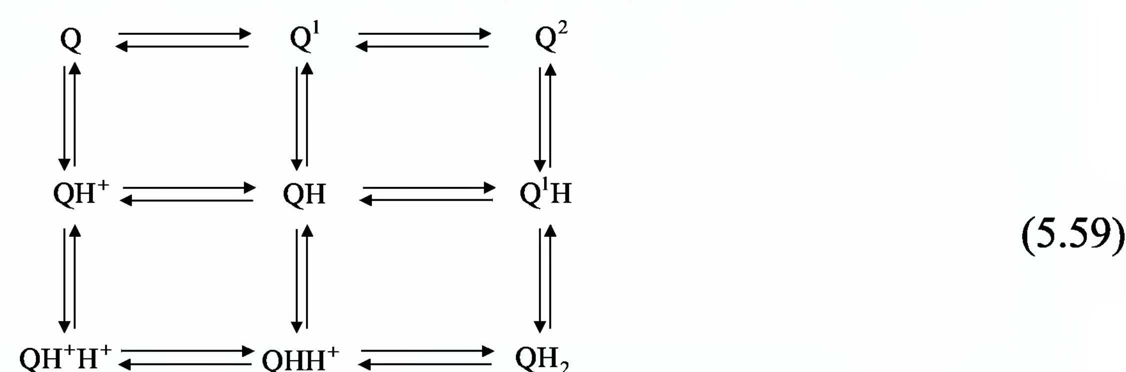
$$\left(l_1 = e^{\frac{F(E_д - E_н)}{RT}}, \quad \theta_1 l_1 = e^{\frac{F(E_п - E_н)}{RT}} \right).$$

В полном согласии с формулой (5.52) это выражение можно аппроксимировать более простыми в зависимости от того, больше ли редокс-потенциал обоих среднеточечных потенциалов

$$pK' \approx \begin{cases} pK + \dfrac{F\,(E_д - E_п)}{RT}, & E_Н > E_п, E_д, \\ pK + \dfrac{F\,(E_п - E_д)}{RT}, & E_п > E_Н > E_д, \\ pK, & E_Н < E_п, E_д. \end{cases} \qquad (5.58)$$

Написанное выражение говорит о том, что приближенно зависимость наблюдаемого pK переносчика электронов от редокс-потенциала среды может быть представлена как совокупность трех линейных зависимостей, как это показано на рис. 27.

Рассмотренный нами случай является простейшим в том смысле, что переносчик может принимать только один электрон и соответственно только один раз протонироваться. Реально же в электрон-транспортных цепях встречаются двухэлектронные переносчики, способные дважды протонироваться. Наиболее важным примером такого рода переносчика электронов является убихинон. Мы ограничимся только тем, что приведем граф переходов хинона между его различными состояниями.



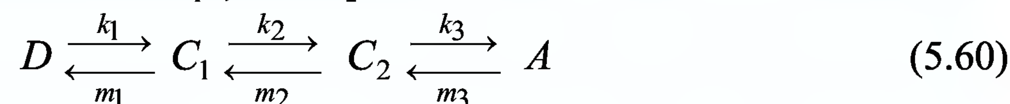
(5.59)

Здесь, как и ранее, горизонтальные переходы соответствуют переходам с участием электрона, а вертикальные — с участием протона.

5.3. Определение сил и потоков для переноса электронов в комплексе

Организация переносчика электронов в комплекс приводит к тому, что при расчете изменений свободной энергии и других термодинамических параметров окислительно-восстановительных реакций, происходящих в комплексах, необходимо пользоваться выражениями для сил и потоков, отличными от тех, которые применяются для реакций, происходящих в растворе, поскольку нужно учитывать концентрации состояний комплекса как целого, а не концентрации окисленных и восстановленных форм отдельных переносчиков [Hill, Chance, 1978; Шинкарев, 1978; Венедиктов и др., 1980в; Arata, Nishimura, 1980].

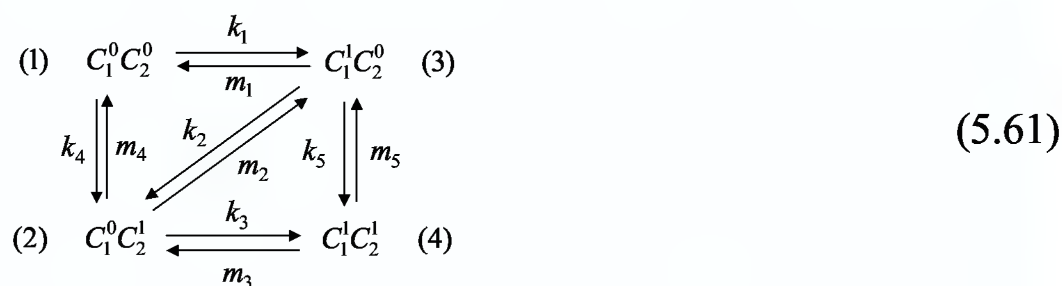
Рассмотрим определение сил и потоков для переноса электронов в комплексе на простейшем примере двух одноэлектронных переносчиков, взаимодействующих друг с другом согласно схеме [Венедиктов и др., 1980в]:



(5.60)

где D, A — донор и акцептор электронов соответственно.

Объединение переносчиков электронов C_1 и C_2 в единый комплекс приводит к тому, что вместо термодинамических характеристик отдельных переносчиков необходимо определять термодинамические характеристики всего комплекса. Поэтому от схемы (5.60) необходимо перейти к рассмотрению



(5.61)

На этой схеме через C_i^0 и C_i^1; (i=1, 2) обозначены соответственно окисленное и восстановленное состояния переносчиков электронов C_1 и C_2. На графе k_1, k_3 пропорциональны концентрации восстановленной формы донора D, а k_4, k_5 — акцептора A; m_1, m_3 и m_4, m_5 пропорциональны концентрациям этих веществ в окисленной форме; k_2, m_2 — мономолекулярные константы скорости внутрикомплексного переноса электрона.

На схеме (5.61) учтена кооперативность в переносе электронов, т. е. зависимость констант скорости электронного транспорта от состояний переносчиков, непосредственно не участвующих в переносе электрона. Далее будем предполагать отсутствие кооперативности в переносе электронов ($k_1 = k_3$, $m_1 = m_3$, $k_4 = k_5$, $m_4 = m_5$).

Переходы между состояниями комплекса, соответствующие схеме (5.61), могут иметь как мономолекулярную природу (пере-

нос электронов внутри комплекса), так и бимолекулярную (взаимодействие комплекса с D и A).

Суммарный поток I для мономолекулярной реакции внутрикомплексного переноса электронов между C_1 и C_2 равен разности частичных потоков в прямом ($J_1 = \tilde{k}_2[C_1^1 C_2^0]$) и обратном ($J_{-1} = \tilde{m}_2[C_1^0 C_2^1]$) направлениях:

$$I_1 = J_1 - J_{-1} = \tilde{k}_2[C_1^1 C_2^0] - \tilde{m}_2[C_1^0 C_2^1] = \\ = Nk_2 P(C_1^1 C_2^0) - m_2 P(C_1^0 C_2^1) \tag{5.62}$$

Здесь $[C_1 C_2]$, $[C_1\, C_2]$—концентрации комплексов, находящихся в состояниях $C_1^1 C_2^0$ и $C_1^0 C_2^1$; $P(C_1^1 C_2^0)$, $P(C_1^0 C_2^1)$ — вероятности того, что комплекс находится соответственно в состояниях $C_1^1 C_2^0$ и $C_1^0 C_2^1$; N — общее число комплексов в единице объема.

Соответствующую этому потоку «обобщенную» силу X_1 можно выразить как

$$X_1 = RT\ln\frac{J_1}{J_{-1}} = RT\ln\frac{k_2 P(C_1^1 C_2^0)}{m_2 P(C_1^0 C_2^1)} \equiv \mu_{C_1^1 C_2^0} - \mu_{C_1^0 C_2^1} = \\ \mu^0_{C_1^1 C_2^0} - \mu^0_{C_1^0 C_2^1} + RT\ln\frac{P(C_1^1 C_2^0)}{P(C_1^0 C_2^1)}, \tag{5.63}$$

где $\mu_{C_1^1 C_2^0}$ и $\mu_{C_1^0 C_2^1}$ — химические потенциалы состояний комплекса $C_1^1 C_2^0$ и $C_1^0 C_2^1$. Вместе с тем если бы переносчики электронов, взаимодействующие друг с другом согласно схеме (5.60), были подвижны, то при условии равенства их общих концентраций поток I_2 и сила X_2 для бимолекулярной реакции переноса электронов между C_1 и C_2 определялись бы другими выражениями:

$$I_2 = J_2 - J_{-2} = k_2'[C_1^1][C_2^0] - m_2'[C_1^0][C_2^1] = \\ = N^2\left[k_2' P(C_1^1)P(C_2^0) - m_2' P(C_1^0)P(C_2^1)\right] \tag{5.64}$$

и

$$X_2 = RT\ln\frac{J_2}{J_{-2}} = RT\ln\frac{(k_2' N)P(C_1^1)P(C_2^0)}{(m_2' N)P(C_1^0)P(C_2^1)} = \\ = (\mu_{C_1^1} - \mu_{C_1^0}) - (\mu_{C_2^1} - \mu_{C_2^0})$$

где k_2' и m_2' — бимолекулярные константы скорости, отвечающие переносу электронов между переносчиками C_1 и C_2 соответственно в прямом и обратном направлениях; $\mu_{C_i^1}, \mu_{C_i^0}$ — химические потенциалы i-го переносчика (i=1, 2) в восстановленной и окисленной формах; $P(C_i^1)$ $[P(C_i^0)]$ — доля i-го переносчика электронов, находящегося в восстановленной (окисленной) форме.

Рассмотрим сначала случай редокс-равновесия комплекса со средой. При этом редокс-состояния отдельных переносчиков электронов, составляющих комплекс, независимы (см. раздел 5.2), а значит, справедливы следующие равенства для вероятностей (долей) состояний комплекса

$$P(C_1^0C_2^0) = P(C_1^0)P(C_2^0), \quad P(C_1^1C_2^0) = P(C_1^1)P(C_2^0),$$
$$P(C_1^0C_2^1) = P(C_1^0)P(C_2^1), \quad P(C_1^1C_2^1) = P(C_1^1)P(C_2^1). \qquad (5.65)$$

Это в свою очередь приводит к тому, что выражения (5.62) — (5.64) для потоков I_1 , I_2 и сил X_1, X_2 становятся тождественными друг с другом при условии равенства соответствующих констант

$$k_2 = Nk_2', \quad m_2 = Nm_2'. \qquad (5.66)$$

Отсюда следует важный вывод: равновесные термодинамические параметры для переносчиков электронов, организованных в комплексы, совпадают с таковыми для подвижных переносчиков, взаимодействующих друг с другом согласно закону действующих масс. Необходимо, однако, помнить, что этот вывод получен лишь для условия, предполагающего отсутствие кооперативности в переносе электронов.

Заключение

В обычном применении термодинамики к анализу переноса электронов в биологических системах рассматриваются, как правило, лишь концентрации окисленных и восстановленных форм отдельных переносчиков электронов.

Однако в комплексах с фиксированной стехиометрией компонентов скорость переноса электронов определяется состояниями всего комплекса, а не состояниями отдельных переносчиков.

В полной аналогии с анализом, проведенным в предыдущей главе о применении закона действующих масс к описанию переноса электронов в комплексах, показано, что в условиях редокс-равновесия со средой к в отсутствие кооперативности в переносе электронов величины термодинамических параметров комплексов переносчиков и подвижных переносчиков совпадают. Если же имеют место кооперативность в переносе электронов или нарушение редокс-равновесия со средой, то термодинамический анализ комплексов переносчиков, основанный на использовании концентраций окисленных и восстановленных форм отдельных переносчиков электронов, становится неприменимым.

Глава 6

ПРИНЦИП ДЕТАЛЬНОГО РАВНОВЕСИЯ

В этой главе изучается возможность термодинамического рассмотрения стационарных состояний мультиферментного комплекса, осуществляющего перенос электронов. Показано, что выполнение принципа детального равновесия является той основой, на которой возможно ввести свободную энергию и энтропию комплекса со свойствами, предсказываемыми феноменологической термодинамикой. Исходя из принципа детального равновесия установлено также, что релаксация к стационарному состоянию может быть описана линейной комбинацией экспоненциальных членов, показатели экспонент у которых — действительные (неположительные) числа.

Рассмотрен вопрос о релаксации мультиферментного комплекса к стационарному состоянию, для которого справедлив принцип детального равновесия, и изучается процесс производства энтропии комплексом в процессе релаксации. При этом удается не только доказать положительность производства энтропии, но и проследить во всех деталях временной характер этого процесса. Рассматриваются различные выражения для производства энтропии и возможные наборы обобщенных сил и сопряженных им потоков, наиболее важным из которых является набор «сродство — скорость реакции».

6.1. Принцип детального равновесия и химический потенциал

Пусть поведение рассматриваемого мультиферментного комплекса описывается следующей системой линейных дифференциальных уравнений (см. гл. 2)

$$\frac{dp_i}{dt} = \sum_{j \neq i} (p_j a_{ji} - p_i a_{ij}), \quad p_i(0) = b_i \geq 0, \quad i = 1, 2, \ldots, n \tag{6.1}$$

Здесь $p_i = p_i(t)$—вероятность того, что комплекс находится в i-м состоянии в момент времени t. В дальнейшем всегда будем предполагать, что константы скорости a_{ij} перехода комплекса из состояния i в состояние j — суть постоянные неотрицательные величины. Такая система дифференциальных уравнений описывает кинетику превращений мультиферментного комплекса при условии постоянства во времени соответствующих субстратов.

Далее в этой главе мы будем рассматривать не произвольные системы дифференциальных уравнений типа (6.1), а лишь такие, для которых справедлив принцип **детального равновесия** (детального баланса).

Определение. Если в стационарном состоянии (dp_i/dt=0, i = 1, 2, . . . , n) полное число переходов системы за единицу времени из произвольного состояния i в соседнее с ним состояние j равно полному числу переходов системы из состояния j в состояние i:

$$\overline{p}_i a_{ij} = \overline{p}_j a_{ji}$$

то говорят, что справедлив принцип детального равновесия [Ландсберг, 1974]. В этом соотношении $\overline{p}_i$, $\overline{p}_j$ — стационарные значения вероятностей состояний i и j, определяемые исходя из системы (6.1), в которой все производные положены равными нулю и использовано условие нормировки

$$\sum_{i=1}^{n} p_i = 1 \qquad (6.3)$$

Таким образом, принцип детального равновесия утверждает, что в стационарном состоянии должно наблюдаться равенство скоростей перехода комплекса из i-го состояния в соседнее с ним j-е состояние и наоборот.

Несложно понять, что из условия стационарности dp_i/dt=0 для схемы переходов между состояниями комплекса еще не вытекает принцип детального равновесия, в то время как из справедливости последнего для произвольных (не обязательно стационарных) вероятностей следует, что реализуется стационарное состояние, в котором dp_i/dt=0. Следовательно, требование стационарности, данное в определении, является, вообще говоря, излишним, однако удобно, поскольку позволяет легко находить вероятности, фигурирующие в формуле (6.2).

В дальнейшем мы наложим на систему дифференциальных уравнений (6.1) некоторые ограничения, которые связаны с тем, что мы исключаем из рассмотрения случаи, когда какой-либо сомножитель в выражении (6.2) равен нулю.

Во-первых, будем предполагать, что стационарные вероятности всех рассматриваемых состояний комплекса отличны от нуля. Для этого, в свою очередь, нужно потребовать, чтобы из каждого состояния комплекса за конечное число шагов можно было попасть в любое другое состояние комплекса (см. гл. 2).

Во-вторых, матрица коэффициентов системы уравнений (6.1) должна быть такой, что если константа скорости a_{ij} перехода из i-го состояния в j-е состояние больше нуля, то и обратная константа скорости a_{ji} перехода из j-го состояния в i-е состояние также больше нуля.

Таким образом, в дальнейшем рассматривается поведение лишь такого мультиферментного комплекса, у которого все состояния соединены между собой обратимыми переходами (рис. 28).

Покажем теперь, что при условии справедливости принципа детального равновесия можно ввести понятие химического потенциала отдельного состояния комплекса.

Рассмотрим для простоты, три сообщающихся между собой состояния i, j, l: $i \underset{a_{ji}}{\overset{a_{ij}}{\rightleftarrows}} j \underset{a_{lj}}{\overset{a_{jl}}{\rightleftarrows}} l$. Согласно принципу детального равновесия для стационарных вероятностей рассматриваемых состояний справедливы равенства $\bar{p}_i a_{ij} = \bar{p}_j a_{ji}$, $\bar{p}_j a_{jl} = \bar{p}_l a_{lj}$.

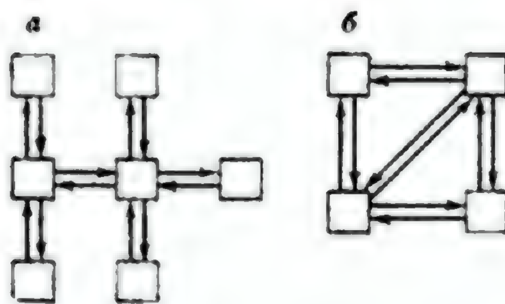


Рис. 28. Примеры (а и б) мультиферментных комплексов, все состояния которых соединены между собой обратимыми переходами

Исключив из этих равенств вероятность $\bar{p}_j$, легко найти связь между $\bar{p}_i$ и $\bar{p}_l$:

$$\bar{p}_i = \bar{p}_l \frac{a_{lj} a_{ji}}{a_{ij} a_{jl}} = \bar{p}_l K_{lj} K_{ji}, \tag{6.4}$$

где K_{lj} — константа равновесия перехода комплекса между l и j состояниями, $K_{lj} = a_{lj} / a_{jl}$. Аналогично этому для любых двух состояний комплекса i и s найдутся соединяющие их состояния $j, \ldots, q, r,$ причем справедливо следующее соотношение между стационарными вероятностями, получаемое последовательным применением принципа детального равновесия:

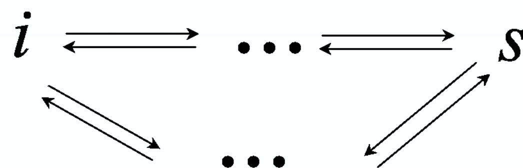
$$\bar{p}_i = \bar{p}_s K_{sr} K_{rq} \cdot \ldots \cdot K_{ji} \tag{6.5}$$

Это выражение показывает, что отношение стационарных вероятностей состояний комплекса определяется произведением констант равновесия, вычисленных вдоль пути, соединяющего рассматриваемые состояния. Если имеется другой путь, соединяющий эти же два состояния (пусть это будет путь, определяемый состояниями $j_1, \ldots, q_1, r_1$), то, последовательно применяя принцип детального равновесия, получим аналогичное выражение

$$\bar{p}_i = \bar{p}_s K_{sr_1} K_{r_1 q_1} \cdot \ldots \cdot K_{j_1 i_1} \tag{6.6}$$

Сравнение полученного выражения с формулой (6.5) приводит к заключению, что если между двумя состояниями i и s имеется несколько соединяющих их путей, то величина произведения констант равновесия вдоль этих путей не зависит от того, вдоль какого пути вычисляется произведение констант равновесия, а определяется только самими состояниями i и s. В частности, если

имеется некий цикл, в котором находятся состояния i и s:



то необходимо, чтобы произведение всех констант равновесия, вычисленное при прохождении всего цикла, например, по часовой стрелке, было равно единице, или, что то же, произведение констант скорости в прямом направлении равно произведению констант скорости в обратном направлении [см., например, Волькенштейн, 1978]:

$$a_{ij}a_{jl}...a_{qr}a_{rs} = a_{sr}a_{rq}...a_{lj}a_{ji} . \qquad (6.7)$$

Легко понять, что если произведение констант равновесия, вычисленное вдоль цикла, содержащего состояния i и s, равно 1, то логарифм этого произведения будет равен нулю. Следовательно, если определить такую функцию E на состояниях комплекса, $E(i)=E_i$, что

$$\theta\, ln\frac{a_{ij}}{a_{ji}} = E_i - E_j \qquad (6.8)$$

то функция состояний E позволит просто выразить свойства произведения констант равновесия, которые обсуждались выше. В частности, с помощью введенной функции E соотношение (6.5) принимает следующий вид:

$$\theta\, ln\frac{a_{ij}}{a_{ji}} = \theta\, ln(K_{sr}K_{rq}...K_{ji}) =$$

$$(E_s - E_r) + (E_r - E_q) + ... + (E_j - E_i) = E_s - E_i$$

Очевидно, так введенная функция E определена только с точностью до произвольной аддитивной постоянной. Коэффициент θ в равенстве (6.8) введен для согласования единиц измерения.

Таким образом, из принципа детального равновесия вытекает следующее фундаментальное соотношение:

$$\theta\, ln\frac{\overline{p}_i}{\overline{p}_s} = E_s - E_i . \qquad (6.9)$$

Он показывает, что логарифм отношения стационарных вероятностей двух любых (не обязательно соседних) состояний пропорционален разности функции E от этих состояний. В дальнейшем функцию E мы будем называть энергией, а ее значение $E_i = E(i)$ на i-м состоянии — энергией i-го состояния комплекса.

Из соотношения (6.9) вытекает, что в стационарных условиях Для любых двух состояний I и 5 наблюдается равенство следующих величин

$$E_i + \theta\, ln\,\overline{p}_i = E_s + \theta\, ln\,\overline{p}_s . \qquad (6.10)$$

Будем называть величину $\mu_i = E_i + \theta \, ln \, p_i$ химическим потенциалом i-го состояния комплекса. Соотношение (6.10) показывает, что при условии справедливости принципа детального равновесия в стационарном состоянии химические потенциалы всех состояний равны друг другу:

$$\mu_i = \mu \tag{6.11}$$

где μ, — стационарное значение химического потенциала.

Через стационарное значение химического потенциала μ, исходя из формулы (6.10), для вероятности $\overline{p}_i$ можно записать следующее простое соотношение

$$\overline{p}_i = e^{(\mu_i - E_i)/\theta} \tag{6.12}$$

Подставляя выраженные таким образом вероятности p_i в условие нормировки (6.3), получим

$$e^{-\mu/\theta} = \sum_{i=1}^{n} e^{-E_i/\theta} \tag{6.13}$$

или, что то же, $\mu = -\theta \ln\left(\sum_{i=1}^{n} e^{-E_i/\theta}\right)$. Следовательно, соотношение (6.12), определяющее стационарную вероятность i-го состояния комплекса, можно записать также в следующем виде:

$$p_i = \frac{e^{-E_i/\theta}}{\sum_{i=1}^{n} e^{-E_i/\theta}}. \tag{6.14}$$

Это соотношение показывает, что стационарная вероятность i-го состояния комплекса пропорциональна величине $\exp(-E_i/\theta)$. Из полученной формулы особенно отчетливо видно, что изменение уровня отсчета энергия не меняет стационарных вероятностей состояний комплекса. Действительно, замена в выражении (6.14) всех членов $\exp(-E_i/\theta)$ на члены $\exp[-(E_i + \Gamma)/\theta)]$, где Γ — произвольная постоянная, не меняет величины стационарных вероятностей. Существенно отметить, что из равенства химических потенциалов различных стационарных состояний комплекса вытекает справедливость принципа детального равновесия. Действительно, пусть в стационарном состоянии химические потенциалы

$$\mu_i = E_i + \theta \, ln \, p_i \tag{6.15}$$

различных состояний равны между собой. Предполагается, что имеет смысл только разность E_i — E_i, которая может быть выражена через константы скорости следующим образом:

$$E_i - E_j = \theta \, ln \frac{a_{ij}}{a_{ji}} \tag{6.16}$$

Если в стационарном состоянии равны друг другу химические

потенциалы состояний μ_i и μ_j, то

$$E_i + \theta \ln \overline{p}_i = E_j + \theta \ln \overline{p}_j. \qquad (6.17)$$

Откуда, воспользовавшись определением (6.16), получим требуемое равенство

$$\overline{p}_i a_{ij} = \overline{p}_j a_{ji}. \qquad (6.18)$$

Таким образом, мы видим, что принцип детального равновесия — это в точности то условие, которому должна удовлетворять система дифференциальных уравнений (6.1) для того, чтобы комплекс обладал термодинамическим поведением, а именно чтобы для каждого состояния комплекса можно было ввести химический потенциал. Известно, что практически все выводы химической термодинамики могут быть получены исходя из определения химического потенциала [Еремин, 1978]. Наша ближайшая цель состоит в том, чтобы, опираясь на введенный в (6.10) химический потенциал i-го состояния комплекса, определить свободную энергию, энтропию и «внутреннюю» энергию комплекса.

6.2. Свободная энергия комплекса

Введенные выше величины химического потенциала характеризуют лишь индивидуальные состояния комплекса. Поэтому естественно вместо этих величин рассмотреть величину, усредненную по всем состояниям комплекса.

$$F = \langle \mu \rangle = \sum_{i=1}^{n} p_i \mu_i = \sum_{i=1}^{n} p_i F_i + \theta \sum_{i=1}^{n} p_i \ln p_i \qquad (6.19)$$

где p_i — вероятности соответствующих состояний комплекса, а угловые скобки означают усреднение.

В стационарном состоянии, когда химические потенциалы различных состояний комплекса равны друг другу, введенная величина совпадает со значением химического потенциала любого состояния комплекса: $F = \mu_i = \mu$ $(i = 1, 2, \ldots, n)$.

свободной энергии $F=U - TS$. Сравнивая соответствующие члены, можно предположить, что внутренняя энергия комплекса равна усредненной по состояниям комплекса энергии соответствующих состояний:

$$U = \langle E \rangle = \sum_{i=1}^{n} p_i E_i, \qquad (6.20)$$

а энтропия комплекса определяется посредством соотношения

$$S = -\frac{\theta}{T} \sum_{i=1}^{n} p_i \ln p_i \equiv -k \sum_{i=1}^{n} p_i \ln p_i \qquad (6.21)$$

где по определению положено $k = \theta/T$.

Ниже мы покажем, что введенные в формулы (6.19) и (6.21) функции F и S действительно обладают всеми свойствами, характерными для свободной энергии и энтропии.

Как известно, одно из основных свойств энтропии состоит в том, что для изолированной системы она монотонно возрастает, пока не достигает в равновесном состоянии максимума. Чтобы доказать это свойство для энтропии, необходимо ввести, как мы увидим далее, более жесткое ограничение на систему дифференциальных уравнений (6.1), чем принцип детального равновесия, а именно

$$a_{ij} = a_{ji} \tag{6.22}$$

которое носит название принципа **микроскопической обратимости** [Ландсберг, 1974]. Таким образом, принцип микроскопической обратимости постулирует симметричность матрицы коэффициентов системы дифференциальных уравнений (6.1). При условии справедливости (6.22) эти уравнения будут иметь вид:

$$dp_i / dt = \sum_{j=1}^{n} a_{ij} (p_j - p_i)\,. \tag{6.23}$$

Несложно непосредственно проверить, что стационарное распределение вероятностей состояний комплекса, получаемое, исходя из этой системы дифференциальных уравнений, приравниванием производных нулю, есть равномерное распределение

$$p_i = 1/n \qquad (\sum_{i=1} p_i = 1). \tag{6.24}$$

Действительно, положив все p_i равными друг другу, получим, что правая часть (6.23) обращается в нуль.

Заметим теперь, что если справедлив принцип микроскопической обратимости, то выполняется и принцип детального равновесия. Действительно, как мы видели, принцип микроскопической обратимости приводит к тому, что в стационарном состоянии все вероятности равны друг другу, откуда следует справедливость равенства

$$\frac{1}{n} a_{ij} = a_{ij} \overline{p}_i = a_{ji} \overline{p}_j = a_{ji} \frac{1}{n}\,. \tag{6.25}$$

Но это и есть принцип детального равновесия. Очевидно, что из справедливости принципа детального равновесия не вытекает справедливость принципа микроскопической обратимости. В этом смысле принцип детального равновесия представляет собой менее жесткое ограничение на исходную систему дифференциальных уравнений (6.1).

Сказанное приводит к тому, что и в рассматриваемом случае справедливо равенство (6.8), откуда получаем

$$E_i - E_j = \theta\, ln \frac{a_{ij}}{a_{ji}} = \theta\, ln 1 = 0\,. \tag{6.26}$$

Таким образом, если справедлив принцип микроскопической обратимости, то это автоматически приводит к тому, что энергии всех состояний равны друг другу. В силу этого для введенной нами внутренней энергии имеем

$$U = \sum_{i=1}^{n} p_i E_i = E_i \sum_{i=1}^{n} p_i = E_1 \qquad (6.27)$$

Следовательно, и внутренняя энергия также не меняется при функционировании комплекса, а это соответствует тому, что мы рассматриваем изолированную систему.

Итак, покажем [см., например: Самойлович, 1955; Фейнман, 1978], что комплекс, поведение которого описывается системой уравнений (6.23), функционирует таким образом, что его энтропия возрастает, причем только в стационарном состоянии она принимает максимальное значение. Дифференцируя выражение для энтропии $S = -k\sum_i p_i \ln p_i$ по времени, имеем

$$\frac{dS}{dt} = -k\sum_{i=1}^{n} \frac{dp_i}{dt} ln\, p_i \qquad (6.28)$$

справедливо равенство $\sum_{i=1}^{n} \frac{dp_i}{dt} = 0$, в силу чего слагаемое

$$-k\sum_{i=1}^{n} p_i \frac{d(ln\, p_i)}{dt} = 0$$

Подставляя в соотношение (6.28) значения производных, даваемых уравнениями (6.23), получим

$$\frac{dS}{dt} = -k\sum_{i=1}^{n}(\sum_{j=1}^{n} a_{ij}(p_j - p_i))ln\, p_i \qquad (6.29)$$

Переставляя «немые» индексы суммирования i и j (величина суммы при этом, естественно, не меняется), можно записать

$$\frac{dS}{dt} = -k\sum_{j=1}^{n}(\sum_{i=1}^{n} a_{ji}(p_i - p_j))ln\, p_j \qquad (6.30)$$

Складывая уравнения (6.29) и (6.30), деля сумму пополам, учитывая соотношение (6.22) и частично перегруппировывая члены, находим

$$\frac{dS}{dt} = +k\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{n} a_{ij}(p_j - p_i)(ln\, p_j - ln\, p_i) \geq 0 \qquad (6.31)$$

Полученное выражение удобно тем, что из него легко усмотреть

неотрицательность производной dS/dt. Действительно, в сумме (6.31) каждое слагаемое неотрицательно. Если, например, $p_j > p_i$, то и $\ln p_j > \ln p_i$. Аналогично, если $p_j < p_i$, то и $\ln p_j < \ln p_i$. Равенство нулю производной энтропии по времени наблюдается лишь тогда, когда достигается равновесное (равномерное) распределение, даваемое соотношением $p_j = p_i = 1/n$, (i, j = 1, 2, ..., n). Таким образом, требуемое свойство энтропии доказано.

Докажем теперь аналогичное утверждение и для свободной энергии. Именно, докажем, что, при условии справедливости принципа детального равновесия, мультиферментный комплекс функционирует таким образом, что его свободная энергия, определенная равенством (6.19), монотонно убывает во времени, достигая своего минимального значения в стационарном состоянии.

Предварительно запишем для свободной энергии комплекса несколько иное выражение. Учитывая условие нормировки Σp_i = 1, а также то, что разность энергии двух состояний комплекса согласно формуле (6.9) пропорциональна логарифму отношения стационарных вероятностей этих состояний, для средней энергии комплекса имеем следующее выражение:

$$U = \sum_{i=1}^{n} p_i E_i = \sum_{i=1}^{n} p_i (E_i - E_1 + E_1) = E_1 + \theta \sum_{i=1}^{n} p_i \ln \frac{\overline{p}_1}{\overline{p}_i} =$$
$$= E_1 + \theta \ln \overline{p}_1 - \theta \sum_{i=1}^{n} p_i \ln \overline{p}_i = \mu_1 - \theta \sum_{i=1}^{n} p_i \ln \overline{p}_i. \tag{6.32}$$

Подставляя это выражение в соотношение (6.19), определяющее свободную энергию комплекса, получим

$$F = U + \theta \sum_{i=1}^{n} p_i \ln p_i = \mu + \theta \sum_{i=1}^{n} p_i \ln \frac{p_i}{\overline{p}_i}, \tag{6.33}$$

где μ— значение химического потенциала, скажем, первого состояния в стационарных условиях, или, что то же, стационарное значение свободной энергии комплекса.

Таким образом, разность текущего (в данный момент времени) и стационарного значения свободной энергии равна

$$F - \mu = \theta \sum_{i=1}^{n} p_i \ln \frac{p_i}{\overline{p}_i}, \tag{6.34}$$

где $\overline{p}_i$ — стационарные вероятности.

Итак покажем, что производная свободной энергии комплекса в силу системы уравнений (6.1) отрицательна всюду, кроме стационарного состояния [см. также: Зельдович, 1938].

Беря производную от выражения (6.34) по времени и под-

ставляя вместо производных dp_i / dt их значения, определяемые уравнениями (6.1), получим

$$\frac{dF}{dt} = \theta \sum_{i=1}^{n} \left(\frac{dp_i}{dt} ln \frac{p_i}{\overline{p}_i} + \frac{dp_i}{dt} \right) = \theta \sum_{i=1}^{n} \frac{dp_i}{dt} ln \frac{p_i}{\overline{p}_i} =$$
$$= \theta \sum_{j=1}^{n} \left(\sum_{i=1}^{n} a_{ij} p_i - a_{ij} p_j \right) ln \frac{p_i}{\overline{p}_i}. \tag{6.35}$$

Аналогично тому, как мы доказывали экстремальность энтропии, переставим немые индексы суммирования i и j (значение суммы при этом не меняется) в правой части равенства (6.35):

$$\frac{dF}{dt} = \theta \sum_{j=1}^{n} \left(\sum_{i=1}^{n} a_{ij} p_i - a_{ij} p_j \right) ln \frac{p_j}{\overline{p}_j} =$$
$$= -\theta \sum_{j=1}^{n} ln \frac{p_j}{\overline{p}_j} \left(\sum_{i=1}^{n} a_{ji} p_j - a_{ji} p_i \right). \tag{6.36}$$

Складывая уравнения (6.35) и (6.36), деля сумму пополам и частично перегруппировывая члены, находим

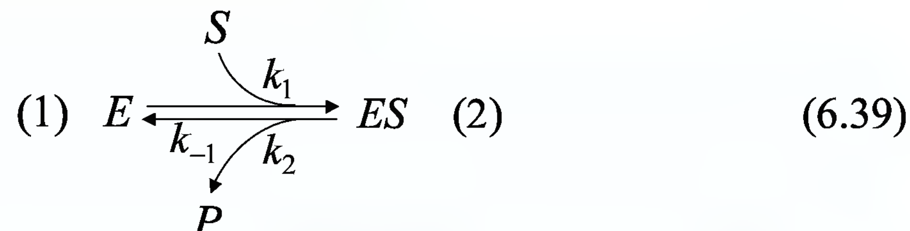
$$\frac{dF}{dt} = \frac{\theta}{2} \sum_{i,j=1}^{n} \left(\sum_{i=1}^{n} \left(a_{ji} p_j - a_{ji} p_i \right) \right) \left(ln \frac{p_i}{\overline{p}_i} - ln \frac{p_j}{\overline{p}_j} \right) =$$
$$= \frac{\theta}{2} \sum_{i,j=1}^{n} \left(a_{ji} p_j - a_{ji} p_i \right) \left(ln \frac{p_i \overline{p}_j}{p_j \overline{p}_i} \right). \tag{6.37}$$

Учитывая теперь, что согласно принципу детального равновесия $\frac{\overline{p}_j}{\overline{p}_i} = \frac{a_{ij}}{a_{ji}}$, соотношение (6.37) можно переписать в следующем виде

$$\frac{dF}{dt} = \frac{\theta}{2} \sum_{i,j=1}^{n} \left(a_{ji} p_j - a_{ji} p_i \right) \left(ln \frac{a_{ji} p_i}{a_{ji} p_j} \right) \geq 0.$$

Из полученного соотношения легко видеть, что производная свободной энергии в силу системы (6.1) неположительна. Действительно, каждое слагаемое этого соотношения имеет вид $(a—b)\ln(a/b)$. Следовательно, как в случае $a>b$, так и в случае $b>a$ каждое слагаемое положительно. Лишь в случае, когда $a = b$ для каждого слагаемого, величина производной равна нулю. Но равенство $a=b$ означает, что справедлив принцип детального равновесия, т. е. $a_{ji}p_j=a_{ij}p_i$. Таким образом, величина F монотонно уменьшается до тех пор, пока не наступит стационарное состояние, в котором выполняется принцип детального равновесия.

В качестве простого примера, иллюстрирующего доказанные в этом параграфе утверждения, рассмотрим фермент, превращающий исходный субстрат S в продукт P с образованием фермент-субстратного комплекса



(6.39)

Будем предполагать, что химический потенциал субстрата намного больше химического потенциала продукта, т. е. суммарная реакция перехода субстрата в продукт необратима. Вместе с тем несложно убедиться, что в предположении постоянства концентрации субстрата для ферментных форм справедлив принцип детального равновесия. Действительно, кинетическое уравнение для вероятности того, что фермент находится в состоянии фермент-субстратного комплекса, имеет вид:

$$\frac{dp_2}{dt} = k_1[S]p_1 - (k_{-1} + k_2)p_2 \tag{6.40}$$

Откуда в стационарных условиях

$$\frac{dp_2}{dt} = k_1[S]p_1 - (k_{-1} + k_2)p_2 = 0 \text{ или } k_1[S]p_1 = (k_{-1} + k_2)p_2,$$

т. е. справедлив принцип детального равновесия $a_{12}p_1 = a_{21}p_2$, где $a_{12} = k_1[S]$, $a_{21} = (k_{-1} + k_2)$. Согласно (6.10) можно определить химические потенциалы обоих состояний по формуле

$$\mu_1 = E_1 + \theta \ln p_1, \quad \mu_2 = E_2 + \theta \ln p_2, \tag{6.41}$$

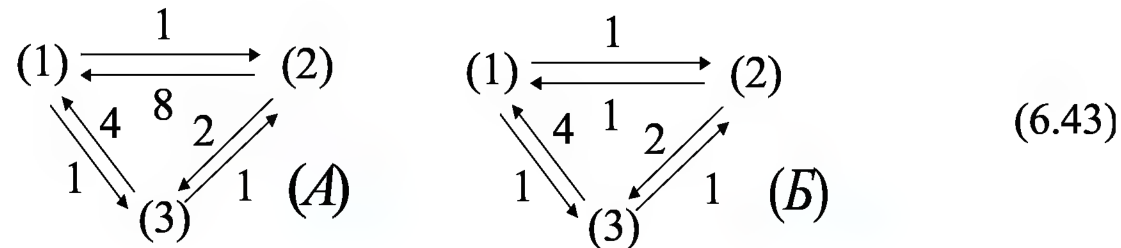
где

$$E_1 - E_2 = \theta \ln \frac{a_{12}}{a_{21}} = \theta \ln \frac{k_1[S]}{k_{-1} + k_2}$$

Величина свободной энергии комплекса равна средней величине химических потенциалов состояний

$$F = \mu_1 p_1 + \mu_2 p_2 \tag{6.42}$$

Как было показано [см. формулу (6.38)], введенная величина F монотонно уменьшается до тех пор, пока в системе не установится стационарное состояние. Отметим, что не для любой схемы переходов комплекса можно ввести свободную энергию указанным выше способом. Так, для схем (6.43) в случае *(А)* это можно сделать, а в случае *(Б)* — нельзя.



(6.43)

Действительно, только для случая (*А*) выполняется критерий (6.7).

Покажем теперь, что химический потенциал отдельного состояния комплекса можно определить не только как $\mu_i = E_i + \theta \ln p_i$, но и как частную производную от свободной энергии комплекса. Для этого рассмотрим дифференциал свободной энергии комплекса:

$$dF = d\left(\sum_{i=1}^{n} p_i \mu_i\right) = \sum_{i=1}^{n} \mu_i dp_i + \sum_{i=1}^{n} p_i d\mu_i. \tag{6.44}$$

Но в силу определения химического потенциала $p_i d\mu_i = \theta dp_i$ и поэтому, учитывая условие нормировки $\sum_{i=1}^{n} p_i = 1$, имеем

$$\sum_{i=1}^{n} p_i d\mu_i = \theta \sum_{i=1}^{n} dp_i = 0.$$

Следовательно, полный дифференциал свободной энергии комплекса равен

$$dF = \sum_{i=1}^{n} \mu_i dp_i. \tag{6.45}$$

Отсюда вытекает, что химический потенциал i-го состояния комплекса равен частной производной от свободной энергии всего комплекса:

$$\mu_i = \frac{\partial F}{\partial p_i}, \quad i = 1,2,\ldots,n. \tag{6.46}$$

Так как свободная энергия комплекса минимальна в равновесии, то необходимо, чтобы ее первый дифференциал был равен нулю, а второй положителен, т. е.

$$dF = 0, \quad \mathrm{d}^2 F = \sum_{i=1}^{n} \frac{\partial^2 F}{\partial p_i \partial p_j} dp_i dp_j \geq 0. \tag{6.47}$$

Учитывая условие нормировки, в силу которой $\sum_{i=1}^{n} dp_i = 0,$ для дифференциала dF получим следующее выражение:

$$dF = \sum_{i=1}^{n} \mu_i dp_i = \sum_{i=1}^{n} [\,\mu_i - \mu_1 + \mu_1\,] dp_i = \sum_{i=1}^{n} (\,\mu_i - \mu_1\,) dp_i = 0. \tag{6.48}$$

В этом выражении все изменения вероятностей состояний dp_i произвольны, откуда немедленно следует, что для того, чтобы это выражение было тождественно равно нулю, необходимо потребовать равенства друг другу химических потенциалов состояний комплекса $\mu_i = \mu_j$. Поскольку выше уже была показана эквивалентность принципа детального равновесия и равенства в равновесии химических потенциалов отдельных состояний комплекса, то мы видим, что принцип детального равновесия может быть получен как следствие экстремальности свободной энергии. В заключение данного параграфа покажем, что средняя энергия комплекса $U = \sum_i E_i p_i$, а также свободная энергия F комплекса $F = \sum_i \mu_i p_i$ обладают свойством аддитивности в том смысле, что если мультиферментный комплекс может быть представлен как совокупность двух независимых подсистем (i) и (j)

$$p_{ij} = p_i \cdot p_i, \tag{6.49}$$

то средняя энергия комплекса и свободная энергия комплекса могут быть представлены в виде суммы соответственно средней и свободной энергии подсистем:

$$U = U_1 + U_2, \tag{6.50}$$

$$F = F_1 + F_2. \tag{6.51}$$

Докажем сначала аддитивность средней энергии комплекса. Рассмотрим разность энергий двух состояний комплекса и воспользуемся равенством (6.9), связывающим между собой разность энергий отдельных состояний комплекса и соответствующие стационарные вероятности:

$$\begin{gathered} E_{ij} - E_{sq} = \theta ln \frac{\overline{p}_{sq}}{\overline{p}_{ij}} \overset{(6.49)}{=} \theta ln \frac{\overline{p}_s \overline{p}_q}{\overline{p}_i \overline{p}_j} = \\ \theta ln \frac{\overline{p}_s}{\overline{p}_i} + \theta ln \frac{\overline{p}_q}{\overline{p}_j} = E_i - E_s + E_j - E_q. \end{gathered} \tag{6.52}$$

В соотношениях (6.52) индексы i и s относятся к первой подсистеме, а индексы j и q — ко второй. Полученное выражение показывает, что в случае независимости подсистем энергия отдель-ного состояния комплекса равна сумме энергий подсистем:

$$E_{ij} = E_i + E_j. \tag{6.53}$$

С учетом этого свойства для средней энергии комплекса имеем

$$U = \sum_{i,j=1}^{n} E_{ij} p_{ij} = \sum_{i,j=1}^{n} (E_i + E_j) p_i p_j =$$

$$\sum_{i=1}^{n} E_i p_i + \sum_{j=1}^{n} E_j p_j = U_1 + U_2.$$

Таким образом, аддитивность средней энергии комплекса доказана. Для свободной энергии комплекса можно записать следующие соотношения:

$$F = \sum_{i,j=1}^{n} \mu_{ij} p_{ij} \overset{(1)}{=} \sum_{i,j=1}^{n} (E_{ij} + \theta \ln p_{ij}) p_{ij} \overset{(2)}{=}$$

$$\overset{(2)}{=} \sum_{i,j=1}^{n} (E_i + E_j + \theta \ln p_i p_j) p_i p_j \overset{(3)}{=} \sum_{i,j=1}^{n} (\mu_i + \mu_j) p_i p_j = \quad (6.54)$$

$$= \sum_{i,j=1}^{n} \mu_i p_i + \sum_{i,j=1}^{n} \mu_j p_j = F_1 + F_2.$$

Здесь, как и ранее, индекс i относится к первой подсистеме, а индекс j — ко второй. В первом равенстве использовано определение (6.10) химического потенциала состояний комплекса; во втором равенстве учтена независимость подсистем (6.49); в третьем равенстве также учтено определение химического потенциала (6.10).

Таким образом, свободная энергия комплекса также является аддитивной величиной. Несложно заметить, проделав выкладки (6.52)—(6.54) в обратном порядке, что из аддитивности средней энергии комплекса и свободной энергии комплекса следует независимость подсистем комплекса. В этом смысле аддитивность этих величия может служить критерием независимости подсистем.

Итак, подведем итог сказанному. Исходя из принципа детального равновесия мы ввели химические потенциалы отдельных состояний мультиферментного комплекса, которые равны друг другу в равновесии. Исходя из химического потенциала отдельного состояния комплекса мы ввели свободную энергию всего комплекса как среднее значение химического потенциала по всем состояниям комплекса. Оказалось, что химический потенциал отдельного состояния, в свою очередь, может быть введен как частная производная свободной энергии по вероятности i-го состояния комплекса. Таким образом, все свелось к функции на состояниях комплекса — свободной энергии, которая минимальна в равновесии. При произвольных начальных условиях свободная энергия комплекса монотонно уменьшается во времени и принимает постоянное значение в стационарном состоянии. Если вместо принципа детального равновесия требовать выполнения

более жесткого условия — принципа микроскопической обратимости, то в этом случае величина энтропии монотонно увеличивается во времени. Выполнение принципа микроскопической обратимости эквивалентно постоянству средней энергии комплекса, и, следовательно, изменение во времени энтропии и свободной энергии комплекса происходит в противофазе:

$$\frac{dF}{dt} = \frac{d(U - TS)}{dt} = -T\frac{dS}{dt}$$

Наша ближайшая цель состоит в том, чтобы более подробно изучить процесс релаксации к стационарному состоянию.

6.3. Релаксация к стационарному состоянию

Ниже мы покажем, что если выполняется 'принцип детального равновесия, то матрица коэффициентов системы дифференциальных уравнений (6.1) обладает действительными и неположительными собственными значениями. Это означает, прежде всего, что стремление комплекса к стационарному состоянию, в котором выполняется принцип детального равновесия, будет экспоненциальным, прячем, невозможны затухающие колебания. Иными словами, при отклонении от стационарного состояния комплекс будет экспоненциально быстро возвращаться в исходное состояние:

$$p_i(t) = \overline{p}_i + \sum_i Q_i(t)e^{-\lambda_i t} \qquad (6.55)$$

Здесь $\overline{p}_i$ —стационарная вероятность i-го состояния комплекса,

$Q_i(t)$

кратность характеристического числа λ_i.

Возможно несколько различных доказательств этого факта. Мы рассмотрим доказательство, в котором в явном виде вычисляются величины характеристических чисел.

Предварительно запишем систему дифференциальных уравнений (6.1) в несколько ином виде:

$$dp_i / dt = \sum_{j=1}^{n}(a_{ij}p_j - a_{ij}p_i) = \sum_{j=1}^{n} b_{ij}p_j, \qquad (6.56)$$

где величины b_{ij} определены равенствами

$$b_{ij} = \begin{cases} a_{ji}, \ i \neq j \\ -\sum_k a_{ik} = -\sum_k b_{ki}. \end{cases} \qquad (6.57)$$

Заметим, что через введенные величины принцип детального равновесия можно записать в виде

$$b_{ij}\overline{p}_j = b_{ji}\overline{p}_i. \qquad (6.58)$$

Для доказательства действительности и неположительности характеристических чисел подставим в систему уравнений (6.56) искомое решение в виде $p_i = \alpha_i e^{-\lambda t}$ где α_i и λ — постоянные, требующие определения. После сокращения левой и правой части на $e^{-\lambda t}$ получим

$$\sum_{j \neq i} b_{ij}\alpha_j = -\lambda\alpha_i \tag{6.59}$$

С учетом формулы (6.57) это равенство можно переписать также в виде

$$\sum_{j \neq i} b_{ij}\alpha_j - \left(\sum_{j \neq i} b_{ji}\right)\alpha_i = \sum_j \left(b_{ij}\alpha_j - b_{ji}\alpha_i\right) = -\lambda\alpha_i. \tag{6.60}$$

Умножив и разделив каждый член этого равенства на значение стационарной вероятности (p_i>0), получим следующее соотношение:

$$\sum_j \left(b_{ij}\bar{p}_j\alpha_j / \bar{p}_j - b_{ji}\bar{p}_i\alpha_i / \bar{p}_i\right) = \\ = \sum_i b_{ij}\bar{p}_j(\alpha_j / \bar{p}_j - \alpha_i / \bar{p}_i) = -\lambda\bar{p}_i\frac{\alpha_i}{\bar{p}_i}. \tag{6.61}$$

ны $b_{ij}\bar{p}_j$ и $b_{ji}\bar{p}_i$ равны друг другу. Обозначим для краткости

$$c_{ij}{}^{\text{опр}}= b_{ij}\bar{p}_j = b_{ji}\bar{p}_i = c_{ij}, \quad \beta_i{}^{\text{опр}}= \alpha_i / \bar{p}_i \tag{6.62}$$

равенство (6.61) можно записать в виде

$$\sum_j c_{ij}\left(\beta_j - \beta_i\right) = -\lambda\bar{p}_i\beta_i. \tag{6.63}$$

Умножив каждое уравнение (6.63) на соответствующую комплексно сопряженную величину β_i^* и сложив все уравнения, получим

$$\sum_{i,j=1}^{n}\sum_j c_{ij}\left(\beta_j - \beta_i\right)\beta_i^* = -\lambda\sum_{i=1}^{n}\bar{p}_i\left|\beta_i\right|^2. \tag{6.64}$$

Поменяв немые индексы в левой части полученного уравнения и воспользовавшись симметричностью матрицы C $(c_{ij} = c_{ji})$, получим

$$\sum_{i,j=1}^{n}\sum_j c_{ij}\left(\beta_i - \beta_j\right)\beta_j^* = -\lambda\sum_{i=1}^{n}\bar{p}_i\left|\beta_i\right|^2. \tag{6.65}$$

Сложив соотношения (6.64) и (6.65), несложно найти для величины λ следующее выражение:

$$\lambda = \frac{\sum_{i,j=1}^{n} c_{ij}(\beta_i - \beta_j)(\beta_i^* - \beta_j^*)}{\sum_{i=1}^{n} \overline{p}_i |\beta_i|^2} = \frac{\sum_{i,j=1}^{n} c_{ij} |\beta_i - \beta_j|^2}{\sum_{i=1}^{n} \overline{p}_i |\beta_i|^2}. \tag{6.66}$$

Числитель и знаменатель этого выражения — действительные и неотрицательные числа, отсюда следует, что величина λ — вещественная и неотрицательная. Заметим, что если не интересоваться численным значением собственных значений, то вещественность собственных значений можно доказать значительно проще [см., например: Жаботинский, 1974]. Для этого достаточно показать, что матрица переходов системы уравнений (6.56) подобна некоторой симметричной матрице *S*. Так как все собственные значения вещественной симметричной матрицы являются вещественными числами, а собственные числа подобных матриц равны друг другу, то собственные значения матрицы *B* также будут вещественными числами. В силу принципа детального равновесия матрица $G = BD$ является симметричной матрицей, где *D* — диагональная матрица равновесных (стационарных) значений

$$\{D\}_{ij} = \overline{p}_i \delta_{ij}.$$

Действительно, ее элементы, находящиеся симметрично относительно главной диагонали, в силу принципа детального равновесия равны друг другу:

$$g_{ij} = b_{ij}\overline{p}_j = b_{ji}\overline{p}_i = g_{ji}. \tag{6.67}$$

Выберем матрицу *S*, о которой говорилось выше следующим образом. Умножив равенство $G = BD$ слева и справа на матрицу

$$\{D^{-1/2}\}_{ij} = \frac{1}{\sqrt{\overline{p}_i}}\delta_{ij}$$

имеем

$$D^{-\frac{1}{2}} G D^{\frac{1}{2}} = D^{-\frac{1}{2}} B D^{\frac{1}{2}} \tag{6.68}$$

Обозначая левую часть этого равенства через матрицу *S*,

$S = D^{-\frac{1}{2}} B D^{\frac{1}{2}}$ откуда

$$B = D^{\frac{1}{2}} S D^{-\frac{1}{2}} \tag{6.69}$$

но это и означает, что матрица *B* подобна симметричной матрице *S*. Уже отсюда можно сделать вывод, что собственные значения матрицы *B* — отрицательные (неположительные), поскольку в противном случае величины $p_i(t)$ описывались бы выражением, которое стремится к ∞ при увеличении времени, что невозможно.

6.4. Энтропия комплекса

Согласно результатам, полученным в данной главе, величину $-k\sum_i p_i \, ln \, p_i$, можно отождествить с энтропией комплекса. Данный параграф посвящен рассмотрению свойств энтропии, определенной этой формулой с целью подтверждения согласованности этого определения со свойствами энтропии, известными из феноменологической термодинамики.

Прежде всего несложно убедиться, что энтропия — величина вещественная и неотрицательная, причем минимальное значение, равное нулю, она принимает только тогда, когда вероятность одного из состояний комплекса равна единице.

Более сложно доказать, что свое максимальное значение энтропия принимает только для случая, когда вероятности всех состояний комплекса равны друг другу. Для доказательства этого факта [Боровков, 1976] рассмотрим функцию *f(x)=xln(x)* на отрезке [0, 1]. Несложно убедиться, что на этом отрезке функция *f(x)* выпукла вниз, следовательно, по определению выпуклой функции для любых $q_i \geq 0$ таких, что $\sum_{i=1}^{n} q_i = 1$ и для $x_i \geq 0$ выполняется неравенство

$$f\left(\sum_{i=1}^{n} q_i x_i\right) \leq \sum_{i=1}^{n} q_i f(x_i).$$

Полагая в этом соотношении $q_i = 1/n$, $x_i = p_i$, получим

$$\left(\frac{1}{n}\sum_i p_i\right) ln\left(\frac{1}{n}\sum_i p_i\right) \leq \sum_i \frac{1}{n} p_i \, ln \, p_i, \tag{6.71}$$

или, учитывая, что $\sum_i p_i = 1$ и что $-\sum_i \frac{1}{n} ln \frac{1}{n} = ln(n)$, имеем требуемое неравенство

$$ln(n) \geq -\sum_{i=1}^{n} p_i \, ln \, p_i, \tag{6.72}$$

Докажем теперь свойство аддитивности энтропии комплекса, которое состоит в том, что энтропия комплекса из двух независимых подсистем равна сумме энтропии подсистем. Этот результат легко может быть выведен из аддитивности средней и свободной энергии [см. формулы (6.50), (6.51)], однако мы рассмотрим прямой вывод. Пусть индекс *i* относится к первой подсистеме, а индекс *j* — ко второй. Тогда для энтропии комплекса

имеем:

$$S=-k\sum_{i,j}p_{ij}\,ln\,p_{ij}\overset{(1)}{=}-k\sum_{i,j}p_ip_j\left(ln\,p_i+ln\,p_j\right)=$$
$$=-k\sum_{i=1}^{n}p_i\,ln\,p_i-k\sum_{j=1}^{n}p_j\,ln\,p_j=S_1+S_2 \qquad (6.73)$$

Здесь в первом равенстве мы воспользовались независимостью подсистем $p_{ij}=p_ip_j$.

Если подсистемы зависимы, то энтропия комплекса, вообще говоря, уже не превосходит суммы энтропии подсистем [см., например: Боровков, 1976]. Для доказательства этого факта предварительно отметим следующее. Если $\sum_{i=1}^{n}p_i=\sum_{i=1}^{n}q_i=1$, то всегда справедливо неравенство

$$\sum p_i\,ln\,q_i\le\sum p_i\,ln\,p_i \quad \text{или} \quad \sum p_i\,ln\frac{q_i}{p_i}\le 0. \qquad (6.74)$$

Это неравенство следует из выпуклости вверх функции *ln(x),* в силу которой при любых $x_i\ge 0$ справедливо неравенство [см. формулу (6.70)]:

$$\sum p_i\,ln\,x_i\le ln\left(\sum x_ip_i\right) \qquad (6.75)$$

Полагая в этом неравенстве $x_i=\frac{q_i}{p_i}$, получим формулу (6.74). С учетом формулы (6.74) имеем

$$S=-k\sum_{i,j}p_{ij}\,ln\,p_{ij}\le-k\sum_{i,j}p_{ij}\left(ln\,p_ip_j\right)=$$
$$=-k\sum_{i,j}p_{ij}\left(ln\,p_i\right)-k\sum_{i,j}p_{ij}\left(ln\,p_j\right)=-k\sum p_i\left(ln\,p_i\right)- \qquad (6.76)$$
$$-k\sum p_j\left(ln\,p_j\right)=S_1+S_2$$

Таким образом, действительно энтропия комплекса не превосходит суммы энтропии подсистем.

Рассмотрим теперь следующую задачу. Найти максимум энтропии при условии, что фиксирована средняя энергия комплекса:

$$S=-k\sum_{i=1}^{n}p_i\,ln\,p_i\to max,\quad \sum_{i=1}^{n}p_iE_i=U,\quad \sum_{i=1}^{n}p_i=1. \qquad (6.77)$$

Для решения этой задачи составляем функцию Лагранжа:

$$L = -k\sum_{i=1}^{n} p_i \ln p_i + \lambda_1\left(\sum_{i=1}^{n} p_i \ln p_i - U\right) + \lambda_2\left(\sum_{i=1}^{n} p_i - 1\right) \to \text{extr}, \quad (6.78)$$

в которой λ_1 и λ_2—«неопределенные» множители.
Приравняв производные функции Лагранжа к нулю, имеем

$$\frac{\partial L}{\partial p_i} = -k(\ln p_i + 1) + \lambda_1 E_i + \lambda_2 = 0. \quad (6.79)$$

$$p_i = e^{\frac{\lambda_1 E_i + \lambda_2 - k}{k}} \quad (6.80)$$

Учитывая условие нормировки $\sum_{i=1}^{n} p_i = 1$ получим для величины $e^{\frac{\lambda_2 - k}{k}}$ следующее выражение:

$$e^{\frac{\lambda_2 - k}{k}} = \frac{1}{\sum_i e^{\frac{\lambda_1 E_i}{k}}}$$

Следовательно, для вероятностей, удовлетворяющих условию максимума энтропии, при условии, что средняя энергия фиксирована имеем каноническое распределение Гиббса [см. формулу (6.14)]:

$$p_i = \frac{e^{\frac{\lambda_1 E_i}{k}}}{\sum_{i-1}^{n} e^{\frac{\lambda_1 E_j}{k}}} \quad (6.82)$$

выбрана одной и той же для всех состояний сразу. Эта величина играет роль обратной температуры. С учетом сказанного формулу (6.82) можно записать также в виде

$$p_i = \frac{e^{-E_i/kT}}{\sum_{i=1}^{n} e^{-E_i/kT}} \quad (6.83)$$

$$F = U - TS = \sum_{i=1}^{n} p_i E_i + kT\left(\sum_{i=1}^{n} p_i \ln p_i\right).$$

Таким образом, условный экстремум энтропии при постоянстве

средней энергии комплекса равносилен безусловному экстремуму (минимуму) свободной энергии, что и обусловливает роль последней.

Рассмотренные нами свойства энтропии — ее аддитивность, стремление к максимуму в изолированной системе (6.31) говорят о естественности введенного нами определения.

Далее мы рассмотрим различные представления для производства энтропии, позволяющие выделить несколько эквивалентных наборов «сил» и «потоков».

6.5. Производство энтропии

В термодинамике необратимых процессов основную роль играет производство энтропии, которое характеризует степень необратимости протекания процесса [Пригожий, 1960; Де Гротт, Мазур, 1964; Рубин, 1984]. Рассмотрим основные вопросы термодинамики необратимых процессов на простейшей модели мультиферментного комплекса. Наша ближайшая цель состоит в том, чтобы доказать следующее основное утверждение.

Если справедлив принцип детального равновесия, то производство энтропии может быть рассчитано по одной из следующих формул:

$$T\frac{d_iS}{dt} = -\frac{dF}{dt} = -\theta\sum_{i=1}^{n}\dot{p}_i \ln\frac{p_i}{\overline{p}_i} = -\sum_{i=1}^{n}\dot{p}_i\mu_i = \frac{\theta}{2}\sum_{i,j}\left(V_{ij}-V_{ji}\right)ln\frac{V_{ij}}{V_{ji}} = \frac{1}{2}\sum_{i,j}\left(V_{ij}-V_{ji}\right)\left(\mu_i-\mu_j\right) \quad (6.84)$$

Предварительно докажем, что для мультиферментного комплекса, кинетика которого может быть описана системой уравнений (6.1), всегда справедливо следующее равенство:

$$-\sum_{i=1}^{n}\mu_i\dot{p}_i = \frac{1}{2}\sum_{i,j}\left(a_{ij}p_i - a_{ji}p_j\right)\left(\mu_i-\mu_j\right) = \frac{1}{2}\sum_{i,j}\left(V_{ij}-V_{ji}\right)\left(\mu_i-\mu_j\right) \quad (6.85)$$

где μ_i — химический потенциал i-го состояния комплекса, p_i — вероятность того, что комплекс находится в i-м состоянии.

Подставляя в выражение $-\sum_{i=1}^{n}\mu_i\dot{p}_i$ значения производных, даваемых соотношением (6.1) и раскрыв скобки, получим:

$$-\sum_{i=1}^{n}\mu_i\dot{p}_i=-\sum_{i=1}^{n}\mu_i\left[\sum_{j=1}^{n}\left(a_{ji}p_j-a_{ij}p_i\right)\right]= \\ =-\sum_{i,j}\mu_i a_{ji}p_j+\sum_{i,j}\mu_i a_{ij}p_i. \qquad (6.86)$$

Поменяв немые индексы i и j во втором слагаемом и вынося за скобки $a_{ji}p_j$, получим

$$-\sum_{i=1}^{n}\mu_i\dot{p}_i=\sum_{i,j}a_{ji}p_i\left(\mu_j-\mu_i\right)\overset{(1)}{=}\sum_{i<j}\left(\mu_j-\mu_i\right)\left(a_{ji}p_j-a_{ij}p_i\right)\overset{(2)}{=} \\ \overset{(2)}{=}\frac{1}{2}\sum_{i,j}\left(\mu_j-\mu_i\right)\left(a_{ji}p_j-a_{ij}p_i\right) \qquad (6.87)$$

Здесь в первом равенстве произведен переход к упорядоченным индексам суммирования, а во втором равенстве —обратный переход к неупорядоченным индексам.

Несложно заметить, что в проведенных выкладках нигде не использовалось то, что μ_i—химический потенциал i-го состояния комплекса. Существенно также, что окончательный результат верен независимо от того, что оба коэффициента a_{ji}, a_{ij} или лишь один из них равен нулю.

Если теперь учесть, что μ_i — химический потенциал i-го состояния комплекса, для которого справедливо соотношение

$$\mu_i-\mu_j=E_i-E_j+\theta ln\frac{p_i}{p_j}=\theta ln\frac{V_{ij}}{V_{ji}}, \qquad (6.88)$$

то равенство

$$\frac{1}{2}\sum_{i,j}\left(V_{ij}-V_{ji}\right)\left(\mu_i-\mu_j\right)=\frac{\theta}{2}\sum_{i,j}\left(V_{ij}-V_{ji}\right)ln\frac{V_{ij}}{V_{ji}} \qquad (6.89)$$

становится очевидным. Покажем теперь, что $\theta\sum_{i=1}^{n}\dot{p}_i\, ln\frac{p_i}{\overline{p}_i}=\sum_{i=1}^{n}\dot{p}_i\mu_i$.

Имеем

$$\theta\sum_{i=1}^{n}\dot{p}_i\, ln\frac{p_i}{\overline{p}_i}\overset{(1)}{=}\theta\sum_{i=1}^{n}\dot{p}_i\left[ln\frac{p_i}{\overline{p}_i}+ln\frac{\overline{p}_1}{p_1}-ln\frac{\overline{p}_1}{p_1}\right]\overset{(2)}{=} \\ \overset{(2)}{=}\theta\sum_{i=1}^{n}\dot{p}_i\left[ln\frac{p_i}{\overline{p}_i}\frac{\overline{p}_1}{p_1}\right]\overset{(3)}{=}\theta\sum_{i=1}^{n}\dot{p}_i\left[ln\frac{a_{i1}p_i}{a_{1i}p_1}\right]\overset{(4)}{=} \\ \overset{(4)}{=}\sum_{i=1}^{n}\dot{p}_i\left[\mu_i-\mu_1\right]\overset{(5)}{=}\sum_{i=1}^{n}\dot{p}_i\mu_i \qquad (6.90)$$

Здесь в первом равенстве мы прибавили и вычли $ln(\bar{p}_1 / p_1)$; во втором учли, что в силу условия нормировки $\sum dp_i = 0$; в третьем равенстве учли, что согласно принципу детального равновесия отношение стационарных вероятностей равно отношению соответствующих констант скорости; в четвертом — определение разности химических потенциалов (6.88); в пятом равенстве воспользовались тем, что $\sum dp_i = 0$.

Таким образом, цепочка равенств в выражении (6.84) доказана. Подчеркнем, что во всех равенствах, кроме (6.85), существенным является справедливость принципа детального равновесия.

Как известно, из термодинамики необратимых процессов [Пригожий, 1961] выражение для производства энтропии дается суммой членов, каждый из которых имеет вид «сила» x «поток». Равенство (6.84) говорит о том, что следующие наборы потоков и сил являются эквивалентными:

$$\{\dot{p}_i, \mu_i\}, \left\{\dot{p}_i,\ ln\frac{p_i}{\bar{p}_i}\right\}, \left\{V_{ij} - V_{ji},\ ln\frac{V_{ij}}{V_{ji}}\right\}, \left\{V_{ij} - V_{ji}, \mu_i - \mu_j\right\}. \qquad (6.91)$$

Наиболее естественной интерпретацией в терминах «сил» и «потоков» является выражение $-\dfrac{dF}{dt} = -\sum_{i=1}^{n} \mu_i \dot{p}_i$. Действительно, считая, что свободная энергия зависит только от вероятностей состояний $F=F(p_1, \ldots, p_n)$, для скорости изменения свободной

$$-\frac{dF}{dt} = -\sum_{i=1}^{n} \frac{\partial F}{\partial p_i}\frac{dp_i}{dt}.$$

Аналогично тому как в механике производная потенциальной энергии по координате есть сила, так и в рассматриваемом случае естественно назвать величину $\mu_i = \dfrac{\partial F}{\partial p_i}$ — силой, обусловливающей химические превращения.

Обратим внимание на то, что число слагаемых в выражении (6.84) для различных представлений производства энтропии через силы и потоки существенно отличается друг от друга. Если в

$$-\sum_{i=1}^{n} \dot{p}_i \mu_i \text{ и } -\theta \sum_{i=1}^{n} \dot{p}_i\, ln\frac{p_i}{\bar{p}_i}$$

число слагаемых равно числу состояний комплекса, то в остальных случаях число слагаемых равно числу возможных переходов между состояниями комплекса при условии, что в рассматриваемых суммах не учитываются одинаковые слагаемые. Ясно, что эти

различия в числе потоков и сил связаны с тем, что в первом случае потоки и силы связаны с изменением заселенности отдельных состояний комплекса, в то время как во втором случае рассматриваются реакции, приводящие к изменению этих заселенностей.

В качестве иллюстрации к сказанному рассмотрим два примера. Для простейшей реакции перехода B в C: $B \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} C$ можно

$dB/dt = k_{-1}C - k_1B$ (6 92)

Поскольку общая скорость данной реакции равна разности скоростей реакции в прямом и обратном направлениях $V = k_{-1}C - k_1B$, а сродство реакции равно $A = \mu_C - \mu_B$, то производство энтропии может быть записано в следующем

$\beta = A \cdot V = (k_{-1}C - k_1B)(\mu_C - \mu_B)$. (6.93)

Однако, согласно равенству (6.92) разность $k_{-1}C - k_1B$ есть не

$dB/dt = dC/dt$

Поэтому величину производства энтропии можно записать также в виде

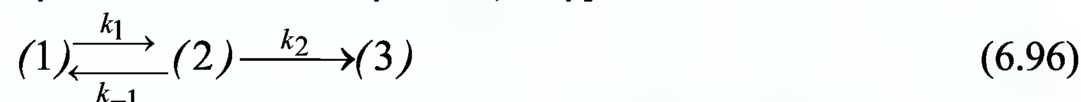
$$\beta = \frac{dB}{dt}(\mu_C - \mu_B) = -\mu_B\frac{dB}{dt} + \mu_C\frac{dB}{dt} = = -\left[\mu_B\frac{dB}{dt} + \mu_C\frac{dC}{dt}\right] \tag{6.94}$$

Таким образом, имеем следующее тождество:

$$A \cdot V = -\mu_B\frac{dB}{dt} - \mu_C\frac{dC}{dt} = J_1X_1 + J_2X_2. \tag{6.95}$$

Как видно, число сил и потоков в приведенных нами представлениях различно.

В качестве второго примера рассмотрим переходы комплекса, в котором одна стадия обратима, а другая нет:



$$(1) \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} (2) \xrightarrow{k_2} (3) \tag{6.96}$$

Для простоты обозначений при написании констант скорости двойные индексы не используются.

Для производства энтропии имеем следующее выражение:

$$-[\mu_1\dot{p}_1 + \mu_2\dot{p}_2 + \mu_3\dot{p}_3] \overset{(1)}{=} -\mu_1(k_{-1}p_2 - k_1p_1) - -\mu_2(k_1p_1 - k_{-1}p_2 - k_2p_2) - \mu_3k_2p_2 = =(\mu_2 - \mu_1)(k_{-1}p_2 - k_1p_1) + (\mu_2 - \mu_3)k_2p_2 = A_1V_1 + A_2V_2 \tag{6.97}$$

Здесь в первом равенстве мы подставили вместо производных их значения, даваемые системой уравнений, описывающих функционирование комплекса согласно схеме (6.96).

Таким образом, равенство (6.85) не зависит от справедливости принципа детального равновесия.

6.6. Принцип детального равновесия и обратимость во времени

Рассмотрим теперь связь принципа детального равновесия с обратимостью во времени функционирования комплекса. В этом параграфе переходы между состояниями мультиферментного комплекса будем рассматривать как случайный процесс ξ_t (см. гл. 2).

Согласно принципу детального равновесия

$$\overline{p}_i a_{ij} = \overline{p}_j a_{ji}, \quad (6.98)$$

где $\overline{p}_i = P\{\xi_t = i\}$ —стационарная вероятность застать комплекс в i-м состоянии.

Величина константы скорости перехода комплекса из i-го состояния комплекса в j-е есть не что иное, как плотность соответствующей вероятности перехода (см. гл. 2):

$$a_{ij} = \lim_{t \to 0} \frac{P_{ij}(t)}{t} = \lim_{t \to 0} \frac{P\{\xi_t = j | \xi_0 = i\}}{t} \quad (6.99)$$

Как мы увидим далее, принцип детального равновесия накладывает на переходные вероятности вполне определенное ограничение, которое сводится к тому, что функционирование комплекса в стационарных условиях $dp_i / dt = 0$ должно быть обратимым во времени. Обратимость во времени означает, что в стационарных условиях для любых двух состояний i и j вероятность следования состояния i *за* состоянием j совпадает с вероятностью следования состояния j за состоянием i.

Для дальнейшего рассмотрения необходимо проанализировать переходные вероятности. Вероятность того, что комплекс в момент времени t находится в j-м состоянии, при условии что в исходный момент времени он находился в i-м состоянии, равна

$$P_{ij}(t) = P(\xi_t = j | \xi_0 = i) \overset{(1)}{=} \frac{P(\xi_t = j, \xi_0 = i)}{P(\xi_0 = i)} \overset{(2)}{=}$$
$$\overset{(2)}{=} \frac{P(\xi_0 = i | \xi_t = j) P(\xi_t = j)}{P(\xi_0 = i)} \overset{(3)}{=} \frac{P(\xi_{-t} = i | \xi_0 = j) P(\xi_t = j)}{P(\xi_0 = i)} \quad (6.100)$$

Здесь в первом равенстве мы воспользовались определением условной вероятности [$P(A/B)=P(AB)/P(B)$]; во втором равенстве записали вероятность пересечения двух событий через условную

вероятность *[P(AB)=P(A/B)P(B)];* в третьем равенстве воспользовались однородностью во времени рассматриваемого процесса и сместили начало отсчета времени. В последнем равенстве появилась переходная вероятность процесса с обращенным временем — $P(\xi_{-t}=i|\xi_0=j)$ в которой нас интересует состояние комплекса в «прошлом» при условии, что известно его состояние в настоящий момент времени $t=0$. Заметим, что записанное соотношение справедливо для любого однородного во времени марковского процесса и является в этом смысле тождеством. Поскольку нас будет интересовать поведение комплекса в стационарных условиях, то соотношение (6.100)

$$P_{ij}(t)=\frac{\overline{p}_j}{\overline{p}_i}P(\xi_{-t}=i|\xi_0=j)=\frac{\overline{p}_j}{\overline{p}_i}P_{ji}(-t)$$

или

$$\overline{p}_i P_{ij}(t)=\overline{p}_j P_{ji}(-t) \qquad (6.101)$$

Рассмотрим теперь принцип детального равновесия (6.98). Левую часть равенства (6.98) с учетом формулы (6.101) можно записать в следующем виде:

$$\overline{p}_i a_{ij}=\overline{p}_i \lim_{t\to 0}\frac{P_{ij}(t)}{t}=\overline{p}_j \lim_{t\to 0}\frac{P(\xi_{-t}=i|\xi_0=j)}{t}. \qquad (6.102)$$

Сравнивая это выражение с величиной, стоящей в соотношении (6.98) справа

$$\overline{p}_j a_{ji}=\overline{p}_j \lim_{t\to 0}\frac{P(\xi_t=i|\xi_0=j)}{t}, \qquad (6.103)$$

получим, что принцип детального равновесия эквивалентен следующему равенству:

$$\lim_{t\to 0}P(\xi_t=i|\xi_0=j)=\lim_{t\to 0}P(\xi_{-t}=i|\xi_0=j). \qquad (6.104)$$

Ограничившись достаточно малыми интервалами времени, это равенство можно переписать в виде

$$P(\xi_t=i|\xi_0=j)\approx P(\xi_{-t}=i|\xi_0=j) \qquad (6.105)$$

Это равенство показывает, что если точно известно состояние мультиферментного комплекса в нулевой момент времени ($\xi_0 = j$), то комплекс с равной вероятностью попал в это состояние из состояния i или перейдет в i-е состояние за промежуток времени t.

Воспользовавшись определением условной вероятности, последнее соотношение можно записать также в виде

$$P(\xi_t=i,\xi_0=j)=P(\xi_{-t}=i,\xi_0=j)=P(\xi_0=i,\xi_t=j) \qquad (6.106)$$

Таким образом, в стационарных условиях для любых двух состояний i и j вероятность следования состояния i за состоянием j

совпадает с вероятностью следования состояния j за состоянием i (см. рис. 29). Можно видеть, что если комплекс функционирует так, что для достаточно малых интервалов времени справедливо условие обратимости функционирования комплекса

$$P(\xi_t = j, \xi_0 = i) = P(\xi_0 = j, \xi_t = i) \qquad (6.107)$$

то справедлив принцип детального равновесия.

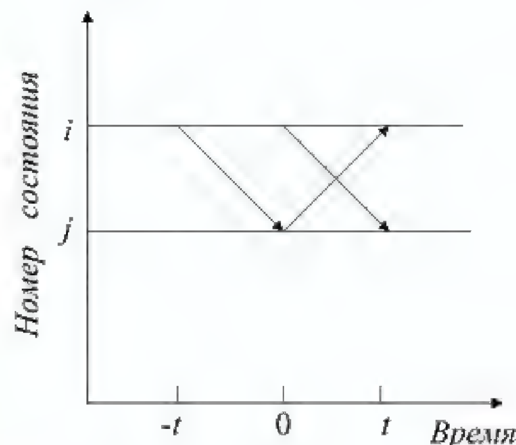


Рис. 29. К обратимости случайного процесса то справедлив принцип детального равновесия.

Действительно, запишем равенство (6.107) через условные вероятности:

$$P(\xi_t = j | \xi_0 = i) P(\xi_0 = i) = P(\xi_t = i | \xi_0 = j) P(\xi_0 = j). \qquad (6.108)$$

Для доста   ка времени t [см. (6.99)]

$$P(\xi_t = i | \xi_0 = j) \approx a_{ji} t, \quad P(\xi_t = j | \xi_0 = i) \approx a_{ij} t. \qquad (6.109)$$

Поэтому это равенство можно переписать в виде

$$a_{ij} p_i = a_{ji} p_j. \qquad (6.110)$$

Таким образом, условие обратимости (6.107) означает равный обмен между различными состояниями комплекса. Ясно, что при таком обмене заселенность каждого состояния комплекса неизменная, т. е. реализуется стационарное состояние.

Заключение

В ряде случаев функционирование мультиферментного комплекса происходит таким образом, что, несмотря на неравновесный характер всей системы в целом, наблюдается тем не менее равновесие между ферментными формами комплекса. Типичным примером такого рода является обычная ферментативная реакция, в результате которой 'Происходит превращение исходного субстрата S в продукт P: $S + E \rightleftarrows ES \rightarrow E + P$. Несмотря на то что в целом суммарная реакция перехода S в P необратима, тем не менее в предположении постоянства концентрации субстрата можно считать, что в стационарном состоянии устанавливается равновесие по ферментным формам. В результате этого в ряде случаев в стационарном состоянии для ферментных форм справедлив принцип детального равновесия. Иными словами, в стационарном состоянии скорость перехода одного состояния комплекса в другое в точности равна скорости перехода второго в первое.

Мультиферментный комплекс, осуществляющий перенос электронов, является удобной моделью для анализа различных понятий феноменологической термодинамики. Ввиду линейности кинетических уравнений можно детально проанализировать вопрос о существовании химического потенциала в неравновесных условиях, об экстремальности термодинамических потенциалов и о релаксации к стационарному состоянию и др. Оказывается, что во всех этих вопросах основную роль играет принцип детального рав-новесия. По существу, в данной главе рассмотрены условия, когда марковская цель с конечным числом состояний обладает термодинамическим поведением. На основе принципа детального равновесия можно относительно просто вычислить вероятности различных состояний комплекса, что, по-видимому, является одним из наиболее эффективных применений этого принципа. Это связано с существованием в рассматриваемом случае функции состояния — энергии комплекса. Следует, однако, иметь в виду, что на самом деле введенные величины энергий различных состояний комплекса не являются постоянными, а зависят (в ряде случаев) от концентрации субстратов.

Глава 7

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ВЕРОЯТНОСТЕЙ СОСТОЯНИЙ КОМПЛЕКСА

Если комплекс состоит из большого числа переносчиков электронов, то число состояний мультиферментного комплекса велико. Поэтому непосредственное нахождение вероятностей этих состояний сталкивается со значительными вычислительными трудностями. В связи с этим целесообразно иметь простую оценку для этих вероятностей. Необходимость простой оценки для вероятностей состояний комплекса следует также и из того, что для графа с большим числом вершин и обратных связей величины вероятностей состояний являются достаточно сложными функциями констант скорости; это приводит к определенным трудностям при их аналитическом изучении. Основное требование к оценкам — их простота. В данной главе выведены неравенства, оценивающие вероятности состояний комплекса молекул-переносчиков. Основное внимание уделяется получению локальных оценок, в которых фигурируют только константы скорости перехода комплекса в данное состояние или ближайшие к нему. Рассматриваются также глобальные оценки, для получения которых существенно используется информация о всех состояниях комплекса.

Выведенные неравенства применяются для оценки скорости переноса электронов через комплекс, для ответа на вопрос о возможности того или иного состояния комплексов, для упрощения исходной системы алгебраических и дифференциальных уравнений и т. п.

7.1. Экспоненциальные оценки

Как и ранее, состояния комплекса S_1,..., S_n, будем обозначать цифрами 1, ..., n, а вероятность того, что комплекс переносчиков находится в S_i-м состоянии в момент времени t—через $P(S_i,t) \equiv p_i(t)$.

Система дифференциальных уравнении с постоянными коэффициентами относительно вероятностей $p_i(t)$ имеет вид

$$dp_i(t)/dt = -k_{ii}p_i + \sum_{j \neq i} k_{ji}p_j\,, \quad i = 1,2, \ldots ,n, \tag{7.1}$$

где k_{ji} константа скорости перехода комплекса из j-го состояния в i-е; $k_{ii} = \sum_{j \neq i} k_{ij}$. Пользуясь неравенством

$$\sum_{j \neq i} k_{ji}p_j \leq \left[\sum_{j \neq i} p_j(t)\right] \max_{j \neq i} k_{ji} \tag{7.2}$$

а также тем, что в силу условия нормировки

$$\sum_{j \neq i} p_j(t) = 1 - p_i(t) \tag{7.3}$$

можно получить дифференциальное неравенство для вероятности p_i:

$$dp_i(t)/dt \leq -k_{ii}p_i + (1 - p_i)\max_{j \neq i} k_{ji} \tag{7.4}$$

Умножая полученное дифференциальное неравенство с постоянными коэффициентами вида

$$dx/dt \leq a - (a+b)x \tag{7.4}$$

слева и справа на величину $e^{(a+b)t}$ и замечая, что

$$d[xe^{(a+b)t}]/dt = dx/dt \cdot e^{(a+b)t} - (a+b)xe^{(a+b)t},$$

получим

$$d[xe^{(a+b)t}]/dt \leq ae^{(a+b)t}$$

Интегрируя это неравенство, найдем

$$x(t)e^{(a+b)t} - x(0) \leq \frac{a}{a+b}e^{(a+b)t} - \frac{a}{a+b}.$$

Откуда

$$x(t) \leq \frac{a}{a+b} + \left[x(0) - \frac{a}{a+b}\right]e^{-(a+b)t}.$$

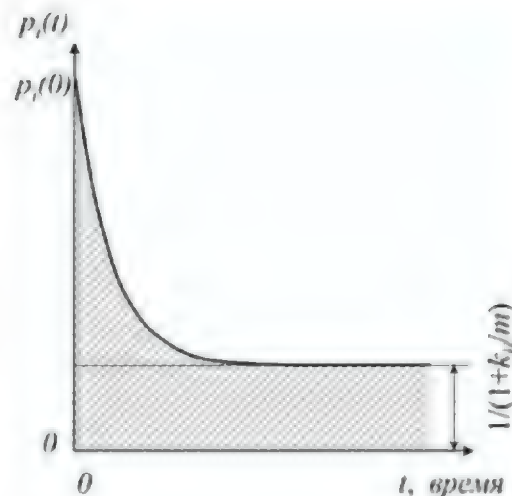


Рис. 30. Область значений $p_i(t)$, выделяемая неравенством (7.6)

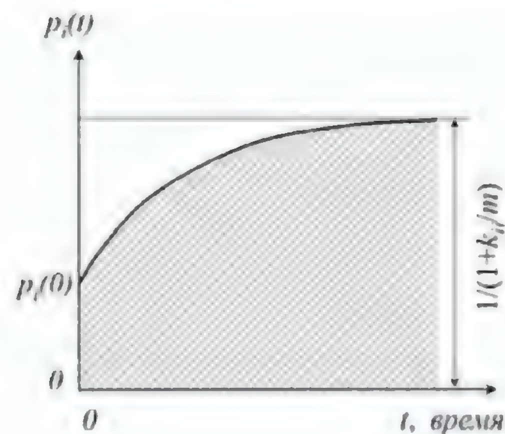


Рис. 31. Иллюстрация того факта, что если начальное условие для вероятности $p_i(t)$ меньше стационарной оценки (7.7), то и для любого момента времени эта вероятность также меньше этой стационарной оценки

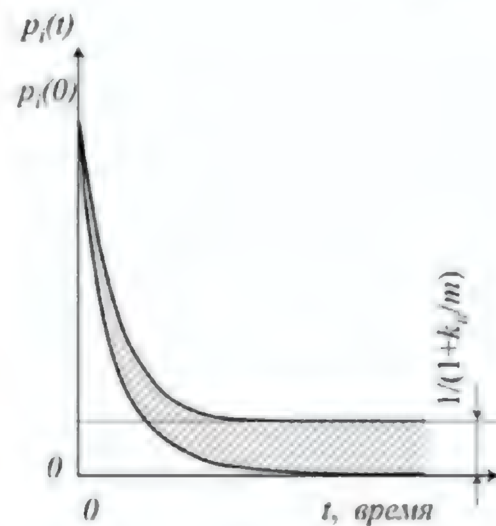


Рис. 32. Область значений $p_i(t)$, выделяемая неравенствами (7.10)

Таким образом, вероятность интересующего нас i-го состояния может быть всегда оценена сверху [Венедиктов, Шинкарев, 1979]:

$$p_i(t) \le \frac{m}{m+k_{ii}} + \left[p_i(0) - \frac{m}{m+k_{ii}} \right] e^{-(m+k_{ii})t}, \qquad (7.6)$$

где $p_i(0)$ —значение вероятности i-го состояния в нулевой момент времени; $m = \max\limits_{j \ne i} k_{ji}$ —максимальная из констант скорости «притока» в данное i-е состояние; $k_{ii} = \sum\limits_{j \ne i} k_{ij}$.

Это и есть искомое неравенство для вероятности отдельного состояния. На рис. 30 заштрихована область, выделяемая неравенством (7.6).

Из неравенства (7.6) вытекает, что стационарная вероятность i-го состояния ($t \to \infty$)

$$p_i \le \frac{m}{m+k_{ii}} \qquad (7.7)$$

всегда меньше единицы и стремится к нулю при увеличении отношения суммы всех констант скорости перехода из данного *i-го* состояния к максимальной из констант скорости перехода в это состояние. При этом если вероятность p_i в начальный момент

времени $t = 0$ не превосходит величины стационарной оценки: $\left(p_i(0) \le \frac{m}{m+k_{ii}} \right)$ то она меньше этой величины и в любой момент времени t (рис. 31):

$$p_i(t) \le \frac{m}{m+k_{ii}} \qquad (7.8)$$

Далее видно, что скорость стремления к стационарной оценке согласно формуле (7.6) зависит от суммы величин m и k_{ii}, в то время как сама величина оценки зависит от их отношения. Следовательно, увеличение всех констант скорости в одно и то же число раз не изменит величины стационарной оценки, однако увеличит скорость стремления к ней, что эквивалентно соответствующему изменению масштаба времени. Из вида стационарной оценки (7.7) следует, что вероятность i-го состояния мала тогда, когда велико отношение k_{ii}/m, т. е. когда сумма всех констант скорости «оттока» из данного состояния существенно больше», чем максимальная из констант скорости «притока» в это состояние. Значит, малую величину вероятности состояния можно обеспечить либо уменьшением максимальной из констант скорости перехода комплекса в данное состояние, либо увеличением констант скорости перехода из выделенного состояния во все другие состояния комплекса.

Аналогично тому как была получена верхняя оценка для вероятности i-го состояния, но не используя условие нормировки, можно получить экспоненциальную оценку:

$$p_i(t) \ge p_i(0)e^{-k_{ii}t}. \qquad (7.9)$$

Таким образом, для вероятности i-го состояния комплекса имеем

$$p_i(0)e^{-k_{ii}t} \le p_i(t) \le \frac{m}{m+k_{ii}} + \left[p_i(0) - \frac{m}{m+k_{ii}} \right] e^{-(m+k_{ii})t}, \qquad (7.10)$$

Неравенство (7.10) является основным во всех дальнейших приложениях. Ширина «коридора» Δ, внутри которого находится вероятность рассматриваемого состояния, зависит как от отношения m/k_{ii}, так и от начальных условий для этой вероятности:

$$\Delta = \frac{m}{m+k_{ii}} \left(1 - e^{-(m+k_{ii})t} \right) + p_i(0) \left(e^{-(m+k_{ii})t} - e^{-k_{ii}t} \right). \qquad (7.11)$$

Следовательно, при $m/k_{ii} \to 0$ ширина «коридора» Δ стремится к нулю, и в этом случае имеется практически точная информация о поведении вероятности рассматриваемого состояния. На рис. 32 показано, как выведенные неравенства могут быть использованы для оценки вероятности i-го состояния.

Рассмотрим несколько примеров применения выведенных неравенств. 1. Пусть граф состояний имеет вид: $\xrightarrow{100} \underset{(1)}{o} \xrightarrow{1}$. Для

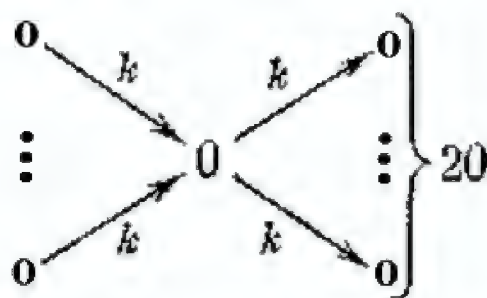
вероятности первого состояния, согласно формуле (7.10) можно

$$p_1(0)e^{-t} \le p_1(t) \le \frac{100}{101} + \left[p_1(0) - \frac{100}{101} \right] e^{-101t}.$$

Мы видим, что стационарная оценка в данном случае является неэффективной. Это значит, что, используя локальный подход, когда вероятность интересующего нас состояния оценивается исходя лишь из уравнения для этого состояния, а в самой оценке фигурируют лишь константы скорости «притока» и «оттока» для данного состояния, нельзя рассчитывать на то, что верхняя оценка даст значение, близкое к истинному. Она может лишь указать тот предельный уровень, выше которого стационарная заселенность данного состояния быть не может. Совершенно очевидно, что если стационарная вероятность состояния, переходящего в первое состояние с константой скорости 100, равна нулю, то и вероятность первого состояния также равна нулю. 2. Пусть граф состоянии комплекса имеет вид: $\xrightarrow{1} \underset{(1)}{o} \xrightarrow{100}$ Для вероятности

$$p_1(0)e^{-100t} \le p_1(t) \le \frac{1}{101} + \left[p_1(0) - \frac{1}{101} \right] e^{-101t}.$$

В рассматриваемом случае эффективной является как нижняя, так и верхняя оценки. Следовательно, здесь локальный подход позволяет достаточно хорошо оценить вероятность рассматриваемого состояния. Заметим, что согласно выражению (7.6) величина верхней оценки не изменится, если считать, что в первое состояние переходит произвольное число состояний с константами скорости, меньшими, чем 1. Действительно, в этом случае максимальная из констант скорости «притока» в данное состояние по-прежнему равна 1, и, таким образом, величина оценки не изменится. 3. В качестве последнего примера рассмотрим граф состояний комплекса, у которого к интересующему нас *l-му* состоянию подходит 100 состояний с одинаковыми константами скорости, а оно в свою очередь переходит в 20 других состояний с теми же константами скорости:



Тогда неравенство (7.10) для вероятности застать комплекс в l-м

$$p_l(0)e^{-20kt} \le p_l(t) \le \frac{1}{21} + \left[p_l(0) - \frac{1}{21} \right] e^{-21kt}.$$

Вероятность состояния l в стационарном состоянии не превышает 1/21. На первый взгляд полученный результат несколько не-

обычен, поскольку интуитивно кажется, что в рассматриваемом случае стационарная вероятность должна быть близка к единице, вследствие того что число состояний, в которые оно переходит, существенно меньше числа состояний, которые переходят в l-е состояние, а величины констант скорости в обоих случаях одинаковы. Полученный результат находит простое объяснение. Исходя из схемы существует по крайней мере 100 отличных от l -го состояний с ненулевыми вероятностями застать в них комплекс. Поскольку сумма всех вероятностей комплекса равна единице, то это приводит к уменьшению вероятности l-го состояния.

Прежде чем вывести оценки для вероятности суммы состояний, отметим, что в силу несовместности отдельных состояний комплекса вероятность суммы состояний равна сумме вероятностей состояний. Это позволяет для получения необходимых оценок воспользоваться системой дифференциальных уравнений (7.1). Кроме того, отметим также тот простой факт, что если имеется верхняя оценка для суммы вероятностей, то эта же оценка справедлива и для каждого слагаемого и, наоборот, из нижней оценки для одного слагаемого следует справедливость этой оценки и для всей суммы.

Совершенно аналогично тому как это было сделано при выводе неравенства (7.10), можно получить верхнюю и нижнюю оценки и для вероятности суммы произвольных r состояний комплекса $P\left(S_{i_1}+S_{i_1}+\ldots+S_{i_1},t\right)$, суммируя необходимые уравнения из системы уравнений (7.1).

Для удобства обозначений будем считать, что нам необходимо получить оценку лишь для вероятности суммы первых r состояний. Просуммировав дифференциальные уравнения (7.1) для вероятностей p_i, i=1, 2, ..., r этих состояний и приводя подобные члены, получим дифференциальное уравнение для суммы этих вероятностей:

$$d\left(p_1+\ldots+p_r\right)/dt=-k'_{11}p_1-\ldots-k'_{rr}p_r+ + \sum_{j>r}\left(\sum_{s=1}^{r}k_{js}\right)p_j \qquad (7.12)$$

Здесь k'_{ii} —сумма всех констант скорости, с которыми i-е состояние ($1\le i\le r$) переходит в состояния, не принадлежащие выделенным r-состояниям. Исходя из выражения (7.12) выведем оценки для суммы вероятностей p_1, ..., p_r. Среди вероятностей p_j, $j>r$ нет вероятностей таких, что их индексы меньше r, поэтому, пользуясь неравенством

$$\sum_{j>r}p_j\le 1-\sum_{i=1}^{r}p_i\,, \qquad (7.13)$$

следующим из условия нормировки

$$\sum_{i=1}^{n} p_i = 1, \qquad (7.14)$$

а также тем, что

$$k'_{11}p_1 + \ldots + k'_{rr}p_r \geq \min_{1\leq i\leq r} k'_{ii}(p_1 + \ldots + p_r),$$

$$\sum_{j>r}\left(\sum_{s=1}^{r} k_{js}\right)p_j \leq \left(\sum_{j>r} p_j\right)\max_j\left(\sum_{s=1}^{r} k_{js}\right) \leq$$

$$\leq \left(1 - \sum_{i=1}^{r} p_i\right)\max_j\left(\sum_{s=1}^{r} k_{js}\right),$$

можно получить дифференциальное неравенство для суммы вероятностей:

$$d\left(\sum_{i=1}^{r} p_i\right)/dt \leq a_1 - (a_1 + b_1)\sum_{i=1}^{r} p_i$$

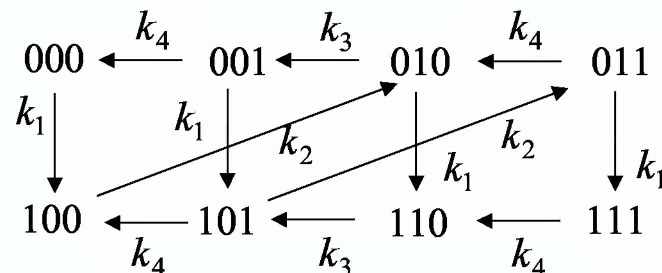
где a_1—максимальная из сумм констант скорости, с которыми комплекс переходит в выделенные r состояний исходя из остальных состояний; b_1—минимальная из сумм констант скорости, с которыми выделенные r состояний переходят во все остальные состояния. Решая это дифференциальное неравенство, получим верхнюю оценку для (вероятности суммы состояний [Шинкарев, 1978; Венедиктов, Шинкарев, 1979]:

$$\sum_{i=1}^{r} p_i \leq \frac{a_1}{a_1 + b_1} + \left(\sum_{i=1}^{r} p_i(0) - \frac{a_1}{a_1 + b_1}\right)e^{-(a_1+b_1)t} \qquad (7.15)$$

Здесь $a_1 = \max_j\left(\sum_{s=1}^{r} k_{js}\right)$, $b_1 = \min_{1\leq i\leq r} k'_{ii}$.

Все сказанное выше для вероятности отдельного состояния дословно переносится на рассматриваемый случай.

В качестве примера применения оценки (7.15) рассмотрим граф состояний, соответствующий переносу электронов в комплексе трех одноэлектронных переносчиков в отсутствие кооперативности



Найдем оценку для состояний 100 и 101, из которых возможен переход по константе скорости k_2. В эти два состояния ведут

константы скорости k_1 и k_3, поэтому $a_1 = \max(k_1, k_3)$. Рассматриваемые состояния 5 и 6 переходят в остальные состояния с константами скорости k_2, поэтому $b_1 = k_2$. Следовательно, согласно формуле (7.15) имеем

$$p_5(t) + p_6(t) \le \frac{\max(k_1,k_3)}{k_2 + \max(k_1,k_3)} + [p_5(0) + p_6(0) -$$

$$- \frac{\max(k_1,k_3)}{k_2 + \max(k_1,k_3)}]\ e^{-(k_2 + max(k_1,k_3))t}$$

Это неравенство показывает, что если константа скорости k_2 существенно больше констант скорости k_1 и k_3, то вероятность суммы рассматриваемых состояний пренебрежимо мала, начиная со времени $\tau \sim 1/k_2$.

7.2. Рекуррентный метод получения оценок

Одним из возможных способов получения оценок является рекуррентный метод, когда для получения новых оценок используются уже ранее найденные. В отличие от изложенного выше метода нахождения локальных оценок, он предполагает известным если не весь граф состояний, то по крайней мере его достаточно большую часть. В связи с этим его рационально применять в случае не очень сложных схем.

Рассмотрим граф состояний комплекса, имеющий следующий

$$\begin{array}{l} 1 \overset{k_1}{\rightarrow} 2 \overset{k_2}{\rightarrow} 3 \overset{k_3}{\rightarrow} \ldots \rightarrow n \overset{k_n}{\rightarrow}. \\ \downarrow m_1 \ \downarrow m_2 \ \downarrow m_3 \qquad \downarrow m_n \end{array} \qquad (7.16)$$

Такого рода схема переходов состояний комплекса, как мы увидим далее, часто встречается при анализе переходных процессов при фотосинтезе. Кроме того, она представляет самостоятельный интерес, поскольку часто возникает при кинетическом анализе переходных процессов в ферментативных реакциях [Березин, Варфоломеев, 1979], а также при анализе надежности различного рода систем [Гнеденко и др., 1965; Соловьев, 1975; Березин, Варфоломеев, 1979]. Если на этой схеме положить все $m_i = 0$, то получится система последовательных мономолекулярных реакций, для которой известно как точное решение [Бартлетт, 1958; Родигин, Родигина, 1960; Бенсон, 1964], так и различного рода оценки [Гнеденко и др., 1965; Соловьев, 1975].

Точное решение

Будем предполагать, что все k_i+m_i—различные. Система дифференциальных уравнений, описывающая переходы, происходящие согласно схеме (7.1), имеет следующий вид:

$$dp_i / dt = k_{i-1} p_{i-1} - (k_i + m_i) p_i, \quad i=1, 2, \ldots, n. \qquad (7.17)$$

Здесь по определению положено $k_0 = 0$. Ниже будем предполагать, что начальные условия для рассматриваемой системы уравнений имеют вид:

$$p_1(0) = 1, \; p_i(0)=0, \; i \geq 2. \tag{7.18}$$

Как можно проверить по индукции, решением системы уравнений (7.17) с начальными условиями (7.18) является следующее выражение:

$$p_i(t) = k_1 k_2 ... k_{i-1} \sum_{s=1}^{i} \frac{e^{-\lambda_s t}}{\omega_i(-\lambda_s)}, \quad i = 1, 2, ..., n, \tag{7.19}$$

здесь

$\lambda_s = k_s + m_s$; $\omega_i(-\lambda_s) = (\lambda_1 - \lambda_s)(\lambda_2 - \lambda_s)...(\lambda_{s-1} - \lambda_s) \times$
$\times (\lambda_{s+1} - \lambda_s)...(\lambda_i - \lambda_s)$.

Полученное решение, хотя и элементарно, однако имеет достаточно громоздкий вид и трудноприменимо при больших n. В связи с этим ниже выведены простые неравенства, которые позволяют оценить кинетическое поведение отдельных переменных.

Вывод оценок [*Шинкарев, 1982*]

Обозначим через M_q и m_q соответственно максимальную и минимальную из величин $(k_i + m_i)$:

$$M_q = \max_{1 \leq i \leq q} (k_i + m_i), \quad m_q = \min_{1 \leq i \leq q} (k_i + m_i) \tag{7.20}$$

Подставляя в систему уравнений (7.17) вместо величин $k_i + m_i$ величины M_q и m_q, получим следующую систему дифференциальных неравенств:

$$k_{i-1} p_{i-1} - M_q p_i \leq \dot{p}_i \leq k_{i-1} p_{i-1} - m_q p_i, \; i = 1, 2, ..., q. \tag{7.21}$$

Рассмотрим сначала правые неравенства. Вводя новые переменные $x_i = p_i e^{m_q t}$, $i = 1, 2, ..., q$, правые неравенства можно переписать в виде

$$\dot{x}_i \leq k_{i-1} x_{i-1}, \quad i = 1, 2, ..., q. \tag{7.22}$$

Так как $k_0 = 0$, то решением первого неравенства в формуле (7.22) является

$$x_1 \leq x_1(0) = p_1(0) = 1. \tag{7.23}$$

Легко видеть, что [illegible]$_i$ $= p_i(0) = 1, \; i > 1,$ поэтому из формулы (7.22) следует, что

$$x_i \leq k_{i-1} \int_0^t x_{i-1} dt, \quad i > 1. \tag{7.24}$$

Итерируя последовательно соотношение (7.24) с учетом (7.23),

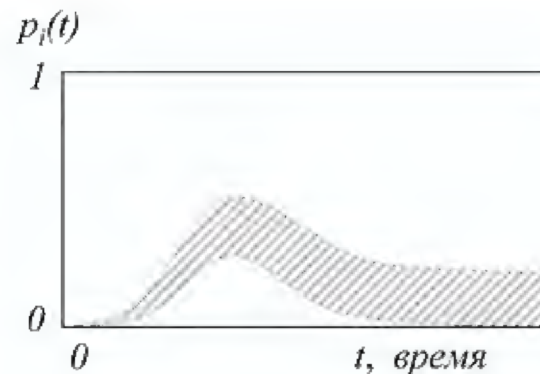


Рис. 33. Область значений $p_q(t)$, выделяемая оценками (7.27)

имеем

$$x_q \le k_1 k_2 ... k_{q-1} \frac{t^{q-1}}{(q-1)!}. \tag{7.25}$$

Возвращаясь к старым переменным, получим искомое неравенство:

$$p_q(t) \le k_1 k_2 ... k_{q-1} \frac{t^{q-1}}{(q-1)!} e^{-m_q t}. \tag{7.26}$$

Аналогичное неравенство можно получить из левой части соотношения (7.21).

Таким образом, для последовательности мономолекулярных реакций, описываемых схемой (7.16), справедливы неравенства:

$$k_1 k_2 ... k_{q-1} \frac{t^{q-1}}{(q-1)!} e^{-M_q t} \le x_q \le k_1 k_2 ... k_{q-1} \frac{t^{q-1}}{(q-1)!} e^{-m_q t}. \tag{7.27}$$

Исходя из полученных неравенств можно сделать следующие выводы:

1. Для малых времен, таких, как $t \le M^{-1}$, правая и левая части неравенств (7.27) совпадают, получим следующее приближение для отдельных переменных (см. также: Гнеденко и др., 1965, с. 300—305):

$$p_q(t) \approx k_1 k_2 ... k_{q-1} \frac{t^{q-1}}{(q-1)!}.$$

Это равенство показывает, что q-е переменное имеет лаг-период, тем более выраженный, чем больше номер состояния, причем по порядку степенной зависимости можно определить номер наблюдаемого переменного.

2. В частном случае, когда $M_q = m_q$ выражение (7.27) дает точное решение исходной системы дифференциальных уравнений:

$$p_q(t) = k_1 k_2 ... k_{q-1} \frac{t^{q-1}}{(q-1)!} e^{-M_q t}.$$

Следовательно, найденные оценки тем точнее, чем меньше разница между M_q и m_q.

3. Поскольку $p_q(0)=0$ и $p_q(\infty)=0$, $q>1$, то все переменные кроме первого проходят через максимум при изменении времени.

На рис. 33 схематично изображена область, выделяемая оценками (7.27) для переменных p_q, $q>1$.

7.3. Оценки для стационарных вероятностей

Для стационарных вероятностей состояний комплекса могут быть получены оценки, отличные от тех, которые являются предельными для экспоненциальных. Это связано с возможностью использовать для их получения систему линейных алгебраических уравнений относительно стационарных вероятностей.

Верхние стационарные оценки

Исходя из формулы (7.1) для стационарных вероятностей можно записать следующую систему линейных алгебраических уравнений:

$$-k_{ii}p_i + \sum_{j \neq i} k_{ji} p_j = 0, \tag{7.28}$$

где $k_{ii} = \sum_{j \neq i} k_{ij}$.

Чтобы получить оценку для стационарной вероятности того или иного состояния можно воспользоваться любым уравнением, куда

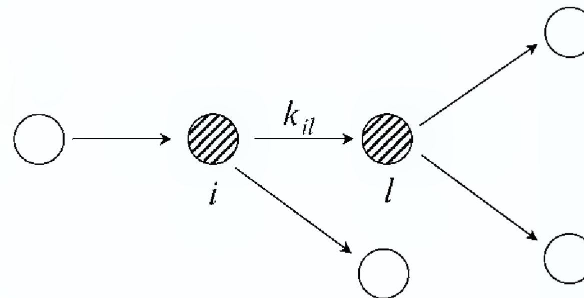


Рис. 34. К выводу неравенства (7.32)

входит эта вероятность. Несложно видеть, что стационарная вероятность p_i фигурирует как в условии стационарности для самого i-го состояния:

$$-k_{ii}p_i + \sum_{j \neq i} k_{ji} p_j = 0, \tag{7.29}$$

так и в качестве слагаемого в уравнениях для вероятностей тех состояний, в которые переходит i-е состояние:

$$-k_{ll}p_l + k_{il}p_i + \ldots = 0, \quad l \neq i. \tag{7.30}$$

Ранее мы уже использовали уравнение (7.29) для получения стационарных оценок — они были предельными для экспоненциальных. Сейчас мы выведем оценки для вероятности i-го состояния, применяя условие стационарности (7.30) для тех состояний, в которые переходит i-е состояние (рис. 34).

Пренебрегая в условии стационарности (7.30) всеми членами, кроме $k_{ii}p_i$, получим

$$k_{il} \quad _i \quad k_{ll}p_l. \tag{7.21}$$

Учитывая теперь, что в силу условия нормировки (7.3) $p_l \leq 1 - p_i$,

для вероятности p_i можем записать

$$p_i \le \frac{k_{ll}}{k_{il} + k_{ll}} \tag{7.32}$$

Таким образом стационарная вероятность застать комплекс в i-том состоянии не превосходит суммы всех констант скорости «оттока» из соседнего по выходу состояния, деленной на сумму этой суммы и константы скорости перехода из i-го состояния в l-е.

Рассмотрим пример применения полученного неравенства. Пусть граф переходов имеет вид

$$\xrightarrow{100} 1 \xrightarrow{100} 2 \xrightarrow{1}$$

Сумма всех констант скорости оттока из второго состояния равна 1, поэтому для вероятности интересующего «ас первого состояния получим $p_1 \le 1/(1 + 100) = 1/100$. Пример иллюстрирует тот случай, когда использование выведенной ранее стационарной оценки (7.7) малоэффективно, а использование оценки (7.32) позволяет значительно лучше оценить вероятность первого состояния. Фактически это связано с тем, что при получении оценки (7.32) учтена информация о состояниях, соседних с интересующим нас состоянием. Можно попытаться за счет расширения числа используемых для получения оценок алгебраических уравнений улучшить полученные ранее оценки. Ниже для получения оценок используются не только отдельные уравнения, но и их суммы.

Метод контура

Система дифференциальных уравнений (7.1) есть условие непрерывности в пространстве состояний — изменение во времени заселенности какого-либо состояния обусловлено переходом комплекса из данного состояния и приходом в него из других состояний. В стационарных условиях для каждого состояния наблюдается равенство скоростей «притока» и «оттока». Геометрически можно считать, что записывается условие стационарности для замкнутого контура γ, окружающего выделенное состояние. Например, если контур γ окружает

$$1 \xrightarrow{k_1} \textcircled{2} \xrightarrow{k_2} 3 \xrightarrow{k_3}$$

то в контур входит поток k_1p_1, а выходит k_2p_2. Условие стационарности для контура γ запишется так же, как для состояния 2: $k_1p_1 = k_2p_2$. Окружим контуром γ не одно, а два состояния, например состояния 2 и 3.

$$1 \xrightarrow{k_1} \underbrace{(2 \xrightarrow{k_2} 3)}_{\gamma} \xrightarrow{k_3}$$

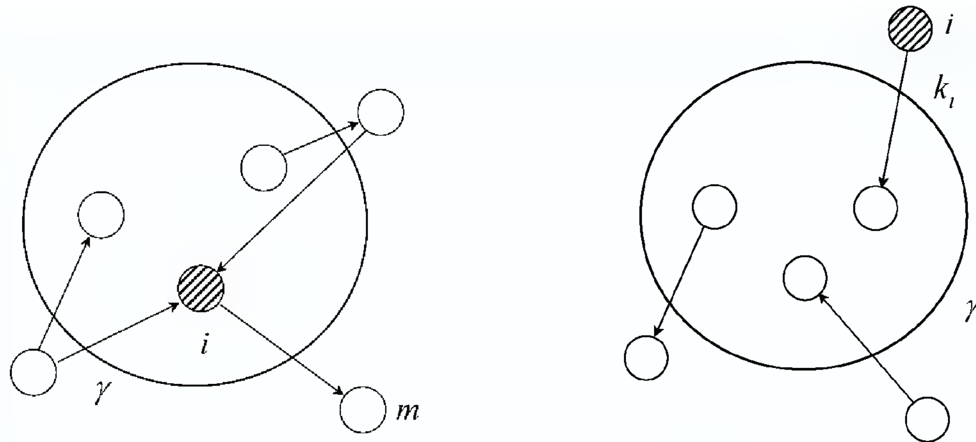


Рис. 35. К выводу неравенства (7.36) **Рис. 36.** К выводу неравенства (7.37)

В данном случае условие стационарности запишется как

$$k_1 p_1 = k_3 p_3. \qquad (7.33)$$

Очевидно, потоки, находящиеся внутри контура, в этом случае, учитывать не надо, поскольку они взаимно уничтожаются. Фактически выражение (7.33) получается при сложении условий, стационарности для состояний 2 и 3. Однако если число состояний достаточно велико, то графический метод может оказаться более предпочтительней, ввиду его наглядности. Выбирая определенным образом контуры, можно получить необходимые для проведения оценок условия стационарности.

Более общие, чем полученные выше, оценки можно вывести из условия стационарности для контура γ. Для того чтобы можно было получить оценку для стационарной вероятности p_i, необходимо, чтобы контур содержал внутри себя интересующее нас состояние i либо чтобы это состояние могло переходить в одно из состояний контура γ. Рассмотрим более подробно процесс получения оценок. Пусть интересующее нас состояние i находится внутри контура γ и имеется состояние m (вне γ, в которое переходит состояние i (рис. 35). Условие стационарности для контура, удовлетворяющего этому требованию, имеет вид:

$$p_q k_q + \ldots + p_r k_r = k p_i \qquad (7.34)$$

Здесь k — сумма констант скорости, с которыми состояние i переходит в состояния, не принадлежащие γ; k_q, ..., k_r—суммы констант скорости, с которыми переходят состояния, не входящие в контур γ, в состояния, входящие в него. Учитывая закон сохранения и следующее из него неравенство $p_q + \ldots + p_r = 1 - p_i$, последовательно имеем.

$$k p_i \le k p_i + \ldots = p_q k_q + \ldots + p_r k_r \le \max_j k_j \left(p_q + \ldots + p_r\right). \qquad (7.35)$$

Таким образом, для вероятности застать комплекс в состоянии i имеем следующую оценку:

$$p_i \leq \max_j k_j / (\max_j k_j + k). \tag{7.36}$$

т. е. стационарная вероятность p_i не больше максимальной из сумм констант скорости перехода состояний, находящихся вне γ, в состояния, принадлежащие γ, деленной на сумму всех констант скорости «вытока» состояния i из контура γ и указанной выше максимальной суммы констант скорости «притока» в контур γ. Ясно, что полученная оценка совпадает с полученной выше оценкой (7.7), если контур γ окружает лишь одно i-е состояние.

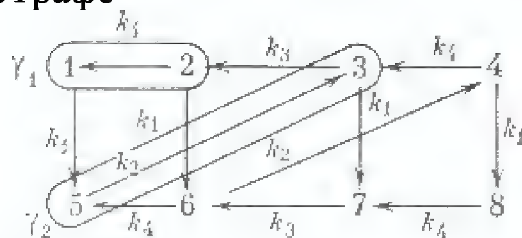
Совершенно аналогично из рассмотрения случая, когда интересующее нас состояние переходит в одно из состояний контура (рис. 36), можно получить следующую оценку:

$$p_i \leq \frac{q}{a + k_j}, \tag{7.37}$$

где a — максимальная из сумм констант скорости, с которыми состояния, принадлежащие контуру γ переходят в состояние вне γ, а k_i—константа скорости, с которой интересующее нас состояние переходит в контур γ.

Ясно, что выведенные здесь оценки для стационарных вероятностей являются обобщением неравенств (7.7) и (7.32) соответственно.

Рассмотрим пример применения выведенных неравенств. Пусть нам необходимо оценить вероятность третьего состояния на графе



Исходя из контура γ_1 для вероятности p_3 получим согласно формуле (7.37): $p_3 \leq k_1 / (k_1 + k_3)$.

Аналогично исходя из контура γ_2 получим согласно формуле (7.36) $p_3 \leq max(k_1, k_4) / [max(k_1, k_4) + k_3 + k_1]$. Если задана определенная иерархия величия констант скорости, то соответствующим выбором контура можно добиться того, что оценка вероятности интересующего нас состояния будет весьма эффективной.

Общий случай
[Шинкарев, 1978; Венедиктов, Шинкарев, 1979]

Рассмотренные выше стационарные оценки связаны по существу с условиями стационарности, полученными простым суммированием алгебраических уравнений для стационарных вероятностей. Однако в ряде случаев оценку можно улучшить, если производить суммирование с соответствующими числовыми коэффициентами:

$$\alpha_1\left(\sum_{j\neq 1} k_{j1}p_j - k_{11}p_1\right) + \ldots + \alpha_n\left(\sum_{j\neq n} k_{jn}p_j - k_{nn}p_n\right) = 0. \quad (7.38)$$

В этой линейной комбинации некоторые из параметров $\alpha_1,\ldots,\alpha_n$ могут быть и нулевыми. После перегруппировки выражение (7.38) принимает вид

$$p_i\beta_i = p_1\beta_1 + \ldots + p_{i-1}\beta_{i-1} + p_{i+1}\beta_{i+1} + \ldots + p_n\beta_n, \quad (7.39)$$

где β_j есть линейная функция параметров $\alpha_1,\ldots,\alpha_n$ и констант скорости переходов k_{ij}. Обозначив $M = max(\beta_s / \beta_i)$ и используя неравенство, аналогичное формуле (7.2), получим стационарную оценку для вероятности застать комплекс в i-м состоянии:

$$p_i \leq 1/(1+M). \quad (7.40)$$

Величина этой оценки зависит от параметров $\alpha_1,\ldots,\alpha_n$. Полагая, например, в формуле (7.38) $\alpha_i \neq 0$, $\alpha_j = 0$, $j \neq i$ для вероятности p_i получим оценку, которая, как это было показано ранее (7.6), является экспоненциальной

$$p_i \leq 1/(1+k_{ii}/m), \quad (7.41)$$

где k_{ii} и m имеют тот же смысл, что и в выражении (7.6). Более точную оценку, чем эта, можно получить, например, если кроме $\alpha_i \neq 0$ в линейной комбинации (7.38) взять ненулевые параметры α_j для тех уравнений, в которые входит вероятность p_i. Эти ненулевые параметры необходимо выбрать так, чтобы обеспечить максимум величины M. Трудности нахождения оценки (7.40) возрастают при увеличении числа ненулевых параметров. При этом точность такой оценки улучшается.

Из линейной комбинации (7.38) аналогичным образом может быть получена оценка и для любой суммы вероятностей $p_1 + \ldots + p_r$.

стационарная вероятность которых при заданных величинах констант скорости будет пренебрежимо мала. Эти вероятности могут быть исключены из системы уравнений для стационарных вероятностей, и в этом случае по-прежнему можно пользоваться условием нормировки

$$\sum_{j\neq i} p_j = 1. \quad (7.42)$$

Таким образом, отыскание стационарных вероятностей может быть сведено к решению системы алгебраических уравнений меньшего порядка, чем исходная.

Нижние стационарные оценки

В отличие от (верхних оценок, которые могли быть получены локально, т. е. исходя из условия стационарности либо для интересующего нас состояния, либо для соседних с ним состояний, нижние оценки, как легко видеть, «е могут быть локальными и для их получения необходимо по существу использовать условия стационарности для всех состояний комплекса. Это связано с тем, что заселенность состоящий, которые переходят в интересующее нас состояние, может быть нулевой, что приведет к тому, что независимо от величин констант скорости стационарная вероятность этого состояния также будет равна нулю.

Нижнюю стационарную оценку для вероятности суммы состояний или, что то же, для суммы вероятностей $p_4 + \ldots + p$, можно получить исходя из верхней оценки для вероятности всех других состояний $p_{l+1}, p_{l+2}, \ldots, p_n$, поскольку если известна верхняя оценка для последних, то из условия нормировки (7.3) сразу следует нижняя оценка для вероятности данных l состояний:

$$p_1 + p_2 + \ldots + p_l \geq 1 - g \qquad (7.43)$$

где $p_{l+1} + p_{l+2} + \ldots + p_n \leq g < 1$. Этот метод удобно использовать для оценки вероятности застать отдельный переносчик электронов в том или ином состоянии.

Кроме того, нижнюю оценку для суммы вероятностей этих состояний можно получить, если найдены следующие соотношения для вероятности суммы состояний

$$p_1 + p_2 + \ldots + p_l = p_1 + p_2 + \ldots + p_l,$$

$$a\left(p_1 + p_2 + \ldots + p_l\right) = p_{l+1},$$

$$b\left(p_1 + p_2 + \ldots + p_l\right) = p_{l+2},$$

$$\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots$$

$$c\left(p_1 + p_2 + \ldots + p_l\right) \leq p_n.$$

Тогда в силу условия нормировки (7.3) после суммирования этих неравенств получим искомую нижнюю стационарную оценку:

$$p_1 + \ldots + p_l \leq 1/\left(1 + a + b + \ldots + c\right)$$

Оценка для отношения вероятностей двух произвольных состояний

Для получения как верхних, так и нижних оценок важно уметь оценивать отношение между вероятностями любых двух состояний комплекса. Ниже кратко излагается один из возможных подходов для нахождения таких оценок.

Рассмотрим граф состояний комплекса и в нем выделим два

произвольных сообщающихся состояния, например 1 и j. Пусть

$$\begin{array}{c} \uparrow m_2 \ \uparrow m_3 \qquad \uparrow m_j \\ 1 \xrightarrow{l_1} 2 \xrightarrow{l_2} 3 \xrightarrow{l_3} \ldots \rightarrow j \xrightarrow{l_j} . \\ \uparrow k_2 \ \uparrow k_3 \qquad \uparrow k_j \end{array} \tag{7.44}$$

Тогда, как видно, справедливо неравенство

$$p_q\left(m_q + l_q\right) \geq \prod_{i=2}^{q-1} \varphi_i p_1 l_1, \tag{7.45}$$

где $\varphi_i = l_i / \left(m_i + l_i\right)$. Действительно, записывая условия стационарности для состояний, входящих в указанный путь, имеем $l_i p_i + \ldots = \ = \left(m_{i+1} + l_{i+1}\right) p_{i+1}$, i=1, 2, ... , j-1. Здесь многоточие означает наличие неотрицательных членов, соответствующих переходу состояний комплекса в выделенные состояния по константам скорости k_i. Пренебрегая этими положительными членами, получим

$$l_i p_i \leq \left(m_{i+1} + l_{i+1}\right) p_{i+1}, \quad i=1, 2, \ldots, j-1. \tag{7.46}$$

Перемножая в полученной системе неравенств (7.46) сначала два первых неравенства, затем три первых неравенства и т. д., несложно получить

$$l_1 p_1 l_1 \cdot \ldots \cdot l_1 \leq \left(m_2 + l_2\right)\left(m_3 + l_3\right) \cdot \ldots \cdot \left(m_{q-1} + l_{q-1}\right) p_q \left(m_q + l_q\right) \tag{7.47}$$

Вводя величины $\varphi_i = l_i \,/\, m_i + l_i$, полученное неравенство можно записать также в виде (7.45). Отметим, что величины φ_i есть вероятности перехода за один шаг из i-го состояния комплекса в l+1-е на схеме (7.44). Выведенное неравенство (7.45) имеет простой смысл, поскольку означает, что «поток», выходящий из q-го состояния на схеме (7.44), всегда не меньше, чем величина «потока», приходящего от какого-то одного состояния — в рассматриваемом случае первого. Это связано с тем, что другие состояния также дают, вообще говоря, ненулевые «потоки» (с константами скорости k_i) в общий поток, выходящий из q-го состояния.

Выведенное соотношение, оценивающее отношение двух вероятностей, может быть использовано для получения как верхних, так и нижних оценок для вероятностей отдельных состояний. Поскольку, как следует из условий нормировки $p_q \leq 1 - p_1$, то для вероятности p_1 имеем верхнюю оценку

$$p_1 \leq 1 / \left(1 + C_{1q}\right) \tag{7.48}$$

где

$$C_{1q} = \frac{l_1}{m_q + l_q} \prod_{i=2}^{q-1} \varphi_i \tag{7.49}$$

Оценка зависит как от состояния q, так и от пути, соединяющего первое и q-е состояния. Наилучшая оценка достигается для тех состояний и путей, ведущих к ним, для которых величина C_{1q} максимальна.

Для получения нижней оценки заметим, что, фиксировав интересующее нас состояние, например с номером q, можно выразить вероятность этого состояния через вероятность любого другого состояния по формуле, полностью аналогичной формуле (7.45):

$$p_q C_{1q}^{-1} \geq p_s, \tag{7.50}$$

где принято обозначение $C_{sq}^{-1} \geq \dfrac{l_s}{m_q + l_q} \prod_{i=s+1}^{q-1} \varphi_i$. Суммируя

неравенства (7.50) по s, учитывая условие нормировки $\sum_{s=1}^{n} p_s = 1$ и

полагая по определению C_{qq}=1, получим нижнюю оценку для вероятности q-го состояния

$$p_q \geq \left(\sum_{s=1}^{n} C_{sq}^{-1} \right)^{-1}, \tag{7.51}$$

Рассмотрим примеры применения неравенств (7.45) и (7.51). Получим верхнюю и нижнюю оценки для четвертого состояния на следующей схеме.



Исходя из схемы в скобках найдем, что

$$C_{14} = \frac{k_1}{k_1 + k_3} \cdot \frac{k_1}{k_3}; \; C_{24} = \frac{k_1}{k_3}; \; C_{34} = \frac{k_1}{k_1 + k_3} \cdot \frac{k_2}{k_3}; \; C_{44} = 1.$$

Следовательно,

$$p_4 \geq \left[\frac{k_1 + k_3}{k_1} \cdot \left(\frac{k_3}{k_1} + \frac{k_3}{k_2} \right) + \frac{k_3}{k_1} + 1 \right]^{-1}.$$

Интересно сравнить полученную нижнюю оценку с точным

$$p_4 = \left[\frac{(k_1 + k_3)k_3}{k_1 k_2} + \frac{k_3}{k_1} + \left(\frac{k_3}{k_1} \right)^2 + 1 \right]^{-1}.$$

Видно, что нижняя оценка практически совпадает с точным решением.

Для верхней оценки исходя из схемы найдем

$$C_{43} = \frac{k_3}{k_2};\; C_{42} = \frac{k_3}{k_1 + k_3};\; C_{41} = \frac{k_3}{k_1}\frac{k_3}{k_3 + k_1}.$$

И следовательно,

$$p_4 \le 1/\left(1 + \max_q C_{4q}\right).$$

Если задана иерархия величин констант скорости, то несложно сразу выбрать максимальную из величин C_{4q}. Сравнение с точным решением показывает, что верхняя оценка является достаточно грубой.

Полученные общие оценки (7.48) и (7.51) могут быть обобщены на случай, когда рассматриваются группы состояний.

Правило для составления упрощенного графа

Пусть константы скорости перехода комплекса из одного состояния в другое таковы, что стационарная вероятность p_l того, что комплекс находится в состоянии l, близка к нулю, т. е. $p_l \approx 0$. Тогда, как уже указывалось ранее, для упрощения графа состояний необходимо исключить l-тое состояние и пересчитать все константы скорости. Чтобы найти формулы для пересчета констант скорости, нужно из соответствующей системы алгебраических уравнений, отвечающей данному графу, исключить вероятность p_l. Нетривиальным здесь является то, что, исключая неизвестное, к нему не возвращаются, чтобы его вычислить, а пренебрегают им, поскольку оно мало.

Уравнение для вероятностей имеет вид:

$$-\left(\sum_{r \ne l} k_{lr}\right) p_l + \sum_{q \ne l} k_{ql} p_q = 0. \qquad (7.52)$$

Откуда следует, что

$$p_l = \frac{\sum_{q \ne l} k_{ql} p_q}{\sum_{r \ne l} k_{lr}}. \qquad (7.53)$$

Подставляя в уравнение для p_s $(s \ne l)$:

$$k_{ls} p_l + \sum_{q \ne s,l} k_{qs} p_q - \left(\sum_{m \ne s} k_{sm}\right) p_s = 0, \qquad (7.54)$$

значение p_l, даваемое выражением (7.53), получим:

$$k_{sl} \frac{\sum_{q \ne l} k_{ql} p_q}{\sum_{r \ne l} k_{lr}} + \sum_{q \ne s,l} k_{qs} p_q - \left(\sum_{m \ne s} k_{sm}\right) p_s = 0, \qquad (7.55)$$

откуда

$$\sum_{q\neq s,l} k^*_{qs} p_q - \sum_{m\neq s} k_{sm} - k_{sl} \frac{k_{ls}}{\sum\limits_{r\neq l} k_{lr}}, \qquad (7.56)$$

где

$$k^*_{qs} = k_{qs} + k_{ql} \frac{k_{ls}}{\sum\limits_{r\neq l} k_{lr}}. \qquad (7.57)$$

Формула (7.57) и есть формула для пересчета констант скорости. Она имеет простой смысл. Новая константа скорости k^*_{qs} перехода из q-го состояния в s-е состояние равна сумме старой константы скорости k_{qs} и доли той константы скорости k_{ql} перехода из q-го состояния в l-е состояние, которая попадает в s-е состояние. Отметим, что величина $k_{ls} / \sum\limits_{r\neq l} k_{lr}$ имеет простой вероятностный смысл, поскольку это есть вероятность перехода из l-го состояния в s-е за один шаг.

Геометрически сказанное означает, что на размеченном графе состояний при исключении состояния l нужно рисовать стрелку из q-го состояния в s-е с константой скорости k^*_{qs} (рис. 37).

Если константы k_{ir} таковы, что, например, $k_{ij} >> \sum\limits_{r\neq j,s} k_{lr}$, то

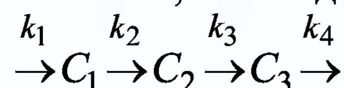
$$k^*_{qs} = k_{qs} + k_{ql} \frac{k_{ls}}{\sum\limits_{r\neq l} k_{lr}} \approx \begin{cases} k_{qs}, & s\neq j \\ k_{qs} + k_{ql}, & s = j \end{cases}$$

и формулы для пересчета констант скорости принимают особенно простой вид.

В заключение отметим, что исключение состояний из размеченного графа эквивалентно методу Гаусса исключения неизвестных и поэтому может представлять определенный интерес как метод для вычисления стационарных вероятностей.

Рассмотрим примеры исключения состояний:

1. В качестве первого примера исключения состояний рассмотрим перенос электронов в комплексе трех одноэлектронных переносчиков, взаимодействующих друг с другом по схеме:



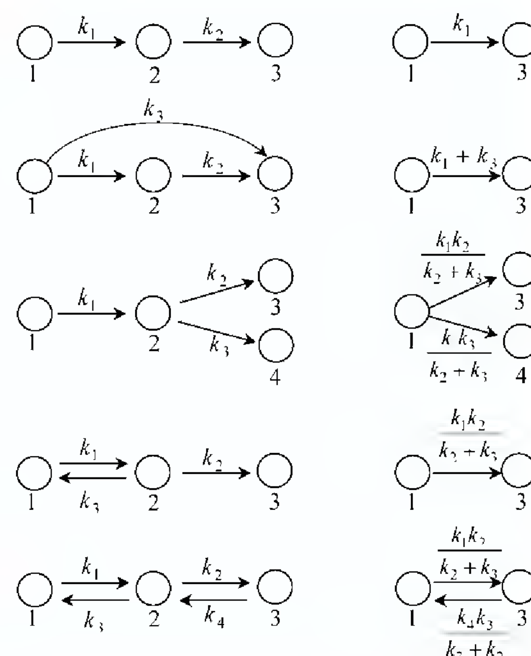
$$\xrightarrow{k_1} C_1 \xrightarrow{k_2} C_2 \xrightarrow{k_3} C_3 \xrightarrow{k_4}$$

Пусть $k_2 > k_i$, i=1, 3, 4, тогда на графе состояний (7.59а), отвечающем этой схеме, вероятности состояний 100 и 101 пренебрежимо малы [см. формулу (7.16)]. Исключая последовательно эти два состояния из графа, имеем графы, показанные на схемах (7.59, *б*), (7.59, *в*), где новые константы скорости

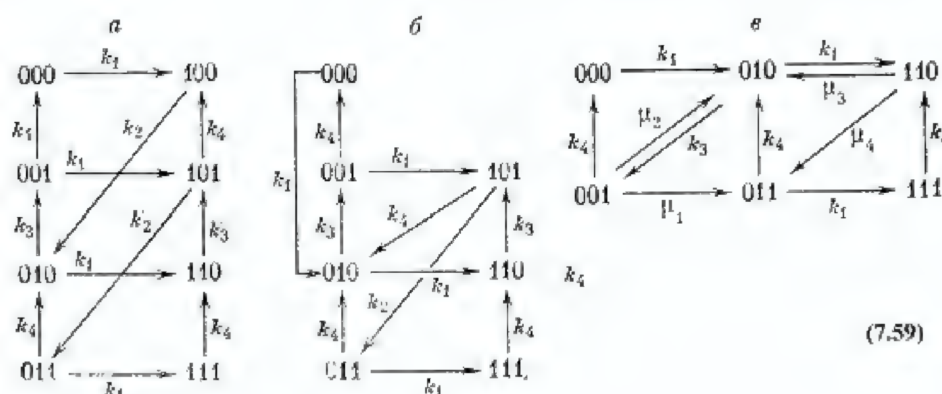
$$\mu_1 = k_1 \frac{k_2}{k_2+k_4} \approx k_1;\ \mu_2 = k_1 \frac{k_4}{k_2+k_4} \approx 0;\ \mu_3 = k_3 \frac{k_4}{k_4+k_2} \approx 0;\ \mu_1 = k_3 \frac{k_2}{k_2+k_4} \approx k_3.$$

Рис 37. Графическая иллюстрация исключения промежуточного состояния

В левом столбце — исходный граф состояний в правом — граф, получающийся после исключения промежуточного состояния (2)



Отметим, что граф (7.59, *в)* справедлив всегда в стационарных условиях, даже когда не выполняется соотношение $k_2 > k_i$ но в последнем случае неизвестно условие нормировки. Этот граф соответствует случаю, когда пару переносчиков C_1C_2 можно приближенно считать одним двухэлектронным переносчиком.



(7.59)

2. Рассмотрим граф состояний вида:

$$\xrightarrow{V}(1)\underset{k_{21}}{\overset{k_{12}}{\rightleftarrows}}(2)\underset{k_{32}}{\overset{k_{23}}{\rightleftarrows}}(3)\underset{k_{43}}{\overset{k_{34}}{\rightleftarrows}}\ldots\rightleftarrows(n)\underset{k_{n+1\,n}}{\overset{k_{n\,n+1}}{\rightleftarrows}}(n+1)\longrightarrow$$

Найдем для данной схемы правило для исключения промежуточных состояний.

Исходя из системы дифференциальных уравнений, описываю-

щих переходы между состояниями комплекса согласно схеме (7.60)

$$\dot{p}_1 = V + k_{21}p_2 - k_{12}p_1$$

$$\dot{p}_i = k_{i-1\,i}p_{i-1} + k_{i+1\,i}p_{i+1} - \left(k_{i\,i-1} + k_{i\,i+1}\right)p_i\,, \quad i = 2,...,n,$$

несложно найти, что в стационарных условиях ($dp_i / dt = 0$) разность скоростей перехода комплекса между состояниями (сум-

$$V = k_{12}p_1 - k_{21}p_2 = ... = k_{i\,i+1}p_i + k_{i+1\,i}p_{i+1} = ... = k_{n\,n+1}p_n + k_{n+1\,n}p_{n+1}$$

Таким образом, для перехода между i-м и i+1-м состояниями

$$k_{i\,i+1}p_i + k_{i+1\,i}p_{i+1} = V$$

или

$$p_i = V / k_{i\,i+1} + \frac{k_{i+1\,i}}{k_{i\,i+1}}p_{i+1}$$

Итерируя последнее соотношение вида $p_i = a_i + b_i p_{i+1}$ несложно получить

$$p_i = a_i + b_i p_{i+1} = a_i + b_i\left(a_{i+1} + b_{i+1}p_{i+2}\right) = ... = A_{is} + B_{is}p_s \qquad (7.61)$$

где

$$A_{is} = a_i + b_i a_{i+1} + ... = \sum_{q=i}^{s-1}\left(a_q \prod_{l=i}^{q-1} b_l\right) \equiv \sum_{q=i}^{s-1}\left(\frac{V}{k_{q\,q+1}} \prod_{l=i}^{q-1} \frac{k_{l+1l}}{k_{ll+1}}\right), \qquad (7.62)$$

С другой стороны, как это следует из вывода соотношения (7.57), метод исключения промежуточных состояний всегда сохраняет поток. Поэтому если исключить все промежуточные состояния между i-м и s-м состояниями на схеме (7.60), то по-прежнему должно наблюдаться равенство

$$k_{is}^{*}p_i - k_{si}^{*}p_s = V$$

или

$$p_i = V / k_{is}^{*} + \frac{k_{si}^{*}}{k_{is}^{*}}p_s, \qquad (7.64)$$

где k_{is} и k_{si} —новые константы скорости, с которыми переходят друг в друга состояния / и 5 после исключения всех промежуточных состояний.

Сравнивая между собой формулы (7.61) и (7.64), несложно найти выражения для констант скорости k_{is}^{*} и k_{si}^{*}:

$$k_{is}^{*} = \sum_{q=i}^{s-1}\left(\frac{1}{k_{qq+1}}\prod_{l=i}^{q-1}\frac{k_{l+1l}}{k_{ll+1}}\right)^{-1} \tag{7.65}$$

$$k_{si}^{*} = k_{is}^{*}\prod_{l=i}^{s-1}\frac{k_{l+1l}}{k_{ll+1}} \tag{7.66}$$

Заметим, что эти выражения очень удобно зависать для времен $\tau_{is} = k_{is}^{-1}$ перехода между состояниями:

$$\tau_{is} = \sum_{q=i}^{s-1}\tau_{qq+1}\prod_{l=i}^{q-1}\frac{\tau_{l\,l+1}}{\tau_{l+1\,l}} \tag{7.67}$$

$$\tau_{si} = \tau_{is}\prod_{l=i}^{s-1}\frac{\tau_{l\,l+1}}{\tau_{l+1\,l}} \tag{7.68}$$

Смысл величин $_{is}$ и τ_{si} очевиден. Они равны средним временам перехода комплекса из i-го состояния в s-е и обратно в схеме, в которой они могут переходить друг в друга непосредственно (рис. 38).

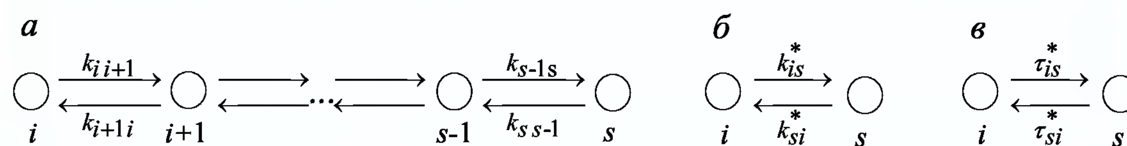


Рис. 38. Иллюстрация процедуры исключения промежуточных состояний *а* — исходный граф; б — граф, полученный после исключения всех промежуточных состояний; *в* — то же, что *б,* но вместо k_{is}^{*} стоят величины $\tau_{is} = \left(k_{is}^{*}\right)^{-1}$

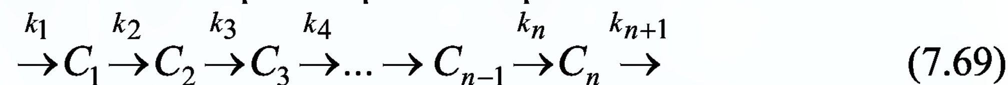
Таким образом, при исключении промежуточных состояний для схемы типа (7.60) константы скорости (времена перехода) пересчитываются по формулам (7.65 — 68). Заметим, что соотношения (7.65—68) можно было бы вывести и непосредственно исходя из формулы (7.57). Имеется несколько иной вывод соотношений (7.65—68) [Малыгин, 1977; Киреев и др., 1981].

Оценки и симметрия

Поскольку во многих случаях граф состояний, описывающий перенос электронов в комплексах, обладает определенной симметрией, для получения оценок для вероятностей отдельных состояний или сумм состояний ею можно воспользоваться. Использование симметрии в оценках особенно ощутимо, так как в оценках фигурирует, как правило, небольшое число различных констант скорости.

Напомним, что для большинства схем переноса электронов характерна кинетическая двойственность между переносом электронов в одном направлении и «дырок» в противоположном. Это

приводит к тому что если справедливо какое-либо соотношение, то справедливо также соотношение, в котором произведена замена восстановленной формы на окисленную и наоборот для симмет-ричных переносчиков электронов при одновременной замене соответствующих констант скорости. В частности, для схемы не-циклического транспорта электронов



$$\xrightarrow{k_1} C_1 \xrightarrow{k_2} C_2 \xrightarrow{k_3} C_3 \xrightarrow{k_4} \ldots \to C_{n-1} \xrightarrow{k_n} C_n \xrightarrow{k_{n+1}} \qquad (7.69)$$

симметричными являются переносчики электронов C_1 и C_n, C_2 и C_{n-1} и т. д., а замена констант скорости осуществляется по правилу $k_1 \leftrightarrow k_{n+1}$, $k_2 \leftrightarrow k_n$ и т. д.

Самый простой способ использования симметрии для нахождения оценок состоит в том, что уже найденные оценки распространяются на состояния, симметричные тем, которые фигурируют в оценке. Например, если в схеме (7.69) для $P(C_1^0)$ имеется оценка $P(C_1^0) \le k_2/(k_1+k_2)$, то для $P(C_n^1)$ имеется аналогичная оценка $P(C_n^1) \le k_n/(k_n+k_{n+1})$.

Если же метод получения оценок (7.48) и (7.51) применить к «симметричным» состояниям, то можно получить сразу как верхнюю, так и нижнюю оценку для отношения вероятностей этих состояний.

7.4. Применение неравенств для оценки некоторых характеристик нециклического транспорта электронов

Оценка скорости переноса электронов через комплекс

Рассмотрим перенос электронов, происходящий согласно схеме (7.69). Запишем условие равенства скоростей переноса электронов через отдельные стадии:

$$k_1 P(C_1^0) = k_2 P(C_1^1 C_2^0) = \ldots = k_n P(C_n^1) = V. \qquad (7.71)$$

Найдем нижнюю оценку для $k_2 P(C_1 C_2)$. Предварительно заметим, что все состояния комплекса принадлежат хотя бы одному из состояний C_1^0, $C_1^1 C_2^0$, $C_2^1 C_3^0, \ldots, C_{n-1}^1 C_n^0$, C_n^1. Действительно, первое состояние C_1^0 и состояние C_1^1 исчерпывают все состояния комплекса. Поэтому достаточно показать, что состояние C_1^1 принадлежит перечисленной группе состояний. Но состояние C_1^1 может быть представлено в виде $C_1^1 C_2^1 + C_1^1 C_2^0$. Из этих двух состояний состояние $C_1^1 C_2^0$ принадлежит перечисленной группе состояний и, следовательно, необходимо показать, что ей принадлежит состояние $C_1^1 C_2^1$. В свою очередь состояние $C_1^1 C_2^1$ может быть представлено в виде

$C_1^1C_2^1C_3^0 + C_1^1C_2^1C_3^1$. Но состояние $C_1^1C_2^1C_3^0$ принадлежит состоянию $C_2^1C_3^0$ и, следовательно, нужно показать, что состояние $C_1^1C_2^1C_3^1$ принадлежит этой группе и т. д. В конце концов останется состояние $C_1^1C_2^1C_3^1 ... C_n^1$. Но это состояние принадлежит C_n^1.

В силу доказанного свойства из условия равенства скоростей переноса электронов на отдельных стадиях (7.71) вытекает спра-

$$k_2P(C_1^1C_2^0) = k_1P(C_1^0) \geq k_1(p_1 + p_2 + ... + p_{r_1}),$$
$$k_2P(C_1^1C_2^0) = k_2P(C_1^1C_2^0) \geq k_1(p_{r_1+1} + ... + p_{r_2}),$$

. . . .

$$k_2P(C_1^1C_2^0) = k_{n-1}P(C_n^1) \geq k_{n+1}(p_{r_n+1} + ... + p_{r_{n+1}})$$

где p_1 - $p_{r_{n+1}}$ — вероятности всех состояний комплекса, выбран-

ства в формуле (7.72). Суммируя неравенства (7.72) и учитывая, что $p_1 + ... + p_{r_{n+1}} = 1$, получим следующую нижнюю оценку для $k_2P(C_1^1C_2^0)$:

$$k_2P(C_1^1C_2^0)[1/k_1 + 1/k_2 + 1/k_3 + ... + 1/k_{n+1}] \qquad (7.73)$$

или

$$V = k_2P(C_1^1C_2^0) \geq [1/k_1 + 1/k_2 + 1/k_3 + ... + 1/k_{n+1}]^{-1} \qquad (7.74)$$

С другой стороны, поскольку вероятность не может превышать единицу, то из равенств (7.72) вытекает, что стационарная скорость переноса электронов через комплекс не превышает минимальную константу скорости из $k_1, k_2, ..., k_{n+1}$.. Объединяя этот вывод с предыдущим, окончательно получим

$$\left[\sum_{i=1}^{n+1} 1/k_i\right]^{-1} \leq V \leq \min_i k_i \qquad (7.75)$$

Сделаем несколько замечаний, следующих из полученной формулы.

1. Стационарная скорость переноса электронов в комплексе стремится к нулю, если хотя бы одна из констант скорости k стремится к нулю.

2. Если значение какой-либо константы скорости стремится к бесконечности ($k_i \to \infty$), то тем не менее стационарная скорость переноса электронов на участке $C_i \xrightarrow{k_i} C_{i+1}$ ограничена сверху величиной $\min_{j \neq i}(k_i)$.

3. При увеличении числа переносчиков в комплексе величина верхней оценки (7.75), вообще говоря, не уменьшается, так как $\min_{j \neq i}(k_i)$ не возрастает.

4. Полученные оценки очевидным образом связаны с принципом узкого места, поскольку стационарная скорость переноса электронов через комплекс согласно формуле (7.75) приближенно равна минимальной константе скорости, если имеется иерархия величин констант скорости.

5. Рассмотрим следующую циклическую схему:

$$1 \xrightarrow{k_1} 2 \xrightarrow{k_2} 3 \xrightarrow{k_3} \ldots \xrightarrow{k_n} n+1, \quad n+1 \xrightarrow{k_{n+1}} 1. \tag{7.76}$$

Несложно найти, что стационарная вероятность застать комплекс в i-м состоянии для этой схемы равна $p_i = (1/k_i)/\left(\sum_{j=1}^{n+1} 1/k_j\right)$, i=1, 2, …, n+1. Следовательно, стационарная скорость переходов в цикле (7.76) равна $V = k_i p_i = \left(\sum_{j=1}^{n+1} 1/k_j\right)^{-1}$. т. е. совпадает с левой частью неравенства (7.75). Поскольку схема (7.76) соответствуют

$$(000\ldots0) \xrightarrow{k_1} (10\ldots0) \xrightarrow{k_2} (010\ldots0) \xrightarrow{k_3} \ldots \xrightarrow{k_n} (0\ldots01), \quad (0\ldots01) \xrightarrow{k_{n+1}} (000\ldots0) \tag{7.77}$$

то неравенство (7.75) можно трактовать как то, что в комплексе скорость переноса электронов всегда не меньше, чем скорость переноса электронов по схеме (7.77). Заметим, что в схеме, со-

$$(1\ldots1) \xrightarrow{k_{n+1}} (1\ldots10) \xrightarrow{k_n} (1\ldots101) \rightarrow \ldots \rightarrow (01\ldots1), \quad (01\ldots1) \xrightarrow{k_1} (1\ldots1) \tag{7.78}$$

стационарная скорость переноса электронов также равна величине $\left(\sum_{j=1}^{n+1} 1/k_j\right)^{-1}$.

Из сказанного следует, что левая часть неравенства (7.75) является хорошим приближением для скорости переноса электронов как в «пустой» цепи, так и для «полной» цепи, а максимальное отличие скорости переноса электронов через комплекс от левой части неравенства (7.75) должно наблюдаться, когда все константы скорости равны друг другу. Интересно, что и для небольшого числа переносчиков электронов, левая часть выражения (7.75) является хорошим приближением. Так, для n =2 и 3 точные значения скорости переноса электронов равны $2k/5$ и $5k/14$, в то время как левая часть формулы (7.75) дает $k/3$ и $k/4$ соответственно.

Таким образом, выражение $\left(\sum_{j=1}^{n+1} 1/k_j\right)^{-1}$ может служить в ряде случаев хорошим приближением для величины скорости переноса электронов через комплекс.

Оценки вероятностей редокс-состояний переносчиков электронов

Рассмотрим процесс нециклического транспорта электронов, происходящий согласно формуле (7.69), и оценим вероятности редокс-состояний отдельных переносчиков электронов, входящих в комплекс. Предварительно отметим, что, найдя оценку для вероятности состояния $C_i^1 C_{i+1}^0$ в виде $P(C_i^1 C_{i+1}^0) \geq a$, мы тем самым находим оценку и для $P(C_i^1)$ и $P(C_{i+1}^0)$: $P(C_i^1) \geq a$, $P(C_{i+1}^0) \geq a$.

Выведенные в предыдущем пункте неравенства (7.74) по существу оценивали вероятность состояния $\left(C_i^1 C_{i+1}^0\right)$. Таким образом, для вероятностей редокс-состояний отдельных переносчи-

$$P(C_i^1) \geq \left(1/k_{i+1}\right)/\left(1/k_1 + 1/k_2 + 1/k_3 + \ldots + 1/k_{n+1}\right),\ i=1, 2,\ldots, n,$$
$$P(C_i^0) \geq \left(1/k_j\right)/\left(1/k_1 + 1/k_2 + 1/k_3 + \ldots + 1/k_{n+1}\right),\ j=1, 2,\ldots, n.$$

Из полученных неравенств с учетом равенства $P(C_i^0) + P(C_i^1) = 1$ можно вывести также двусторонние оценки для вероятностей различных состояний отдельных переносчиков электронов:

$$\left(1/k_{i+1}\right)/\left(\sum_{j=1}^{n+1} 1/k_j\right) \leq P(C_i^1) \leq \left(\sum_{j\neq i} 1/k_j\right)/\left(\sum_{j=1}^{n+1} 1/k_j\right), \tag{7.79}$$

$$\left(1/k_i\right)/\left(\sum_{j=1}^{n+1} 1/k_j\right) \leq P(C_i^0) \leq \left(\sum_{j\neq i+1} 1/k_j\right)/\left(\sum_{j=1}^{n+1} 1/k_j\right). \tag{7.80}$$

Рассмотрим исходя из полученных оценок вероятности застать тот или иной переносчик электронов соответственно в окисленном и восстановленном состояниях. Пусть константа скорости k_1 существенно меньше всех остальных констант скорости $\left(k_i\right)\left(\sum_{j\neq i} 1/k_j\right) < 1$, тогда неравенства (7.80) можно приближенно представить в виде

$$1 - \left(\sum_{j\neq i} 1/k_j\right) k_i \leq P(C_i^0) \leq 1 - k_i / k_{i+1}. \tag{7.81}$$

Откуда следует, что i-й переносчик электронов практически полностью окислен. Таким образом, если константа скорости «при-

тока» электронов к данному переносчику становится меньше всех остальных констант скорости, то этот переносчик становится окисленным. Совершенно аналогично, если самой маленькой константой скорости становится константа «оттока» электронов от данного переносчика электронов, то он становится восстановленным. Объединяя этот вывод с предыдущим, получим, что переносчик, расположенный левее наименьшей константы скорости на схеме (7.69), полностью восстановлен, а правее — полностью окислен.

Заключение

При анализе кинетики переноса электронов в комплексах молекул-переносчиков часто возникают вопросы, для ответа на которые нет необходимости решать соответствующую систему дифференциальных или алгебраических уравнений. Одним из наиболее важных вопросов такого рода является вопрос о заселенности состояний комплекса. В ряде случаев заселенности некоторых состояний комплекса так малы, что их не надо учитывать при анализе кинетики переноса электронов, особенно если это состояние входит в качестве слагаемого в сумму большого числа членов. Типичным здесь является случай, когда нас интересует кинетическое поведение редокс-состояний отдельных переносчиков, являющихся суммой различных состояний комплекса. Пренебрежение в этой сумме членами с малой вероятностью — эффективный метод уменьшения размерности исходной системы уравнений. Стандартный путь исследования заселенности состояний состоит в решении, точном или приближенном, соответствующей системы уравнений. Вместе с тем часто информацию о вероятности того или иного состояния можно получить не решая системы уравнений, а из оценок, использование которых должно быть существенно проще, чем нахождение точного решения. Естественно, что это приводит к применению локального подхода, когда вероятность интересующего нас состояния оценивается лишь из уравнения для этого состояния, а в самой оценке фигурируют лишь константы скорости «притока» и «оттока» для данного состояния.

Глава 8

МЕТОДЫ АНАЛИЗА ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ В КОМПЛЕКСАХ

Существенной особенностью рассматриваемого описания транспорта электронов в комплексах является экспоненциальное возрастание числа состояний комплекса при увеличении числа входящих в него переносчиков. Так, комплекс из 10 переносчиков, каждый из которых может находиться только в двух состояниях, имеет 1024 различных состояния. В результате даже запись уравнений и учет различных начальных условий представляют собой труднообозримую задачу. В данной главе рассмотрены некоторые методы упрощенного описания кинетики переноса электронов в комплексах переносчиков.

8.1. Ограничение на число электронов, находящихся в комплексе, как метод упрощения схемы переходов

Как уже указывалось в гл. 4, какие-либо ограничения на число электронов, находящихся в комплексе, приводит к резкому уменьшению числа уравнений, с помощью которых может быть описан перенос электронов. Существуют несколько особенно простых случаев, когда легко находятся характеристики переноса электронов в комплексе. В частности, если в комплексе на рассматриваемых временах находится не более одного электрона (одной «дырки»), то система уравнений, описывающая функционирование такого комплекса, допускает простое точное решение как для стационарного режима, так и для переходных процессов. Экспериментально указанное ограничение на число электронов в комплексе можно осуществить, изменяя, например, концентрацию экзогенных доноров и акцепторов, pH и т. д. Исходя из сказанного, более удобным для анализа будет эксперимент, проведенный при таких специально подобранных условиях.

Нециклический транспорт

Рассмотрим комплекс, состоящий из n молекул переносчиков, взаимодействующих по схеме



$$\xrightarrow{k_1} C_1 \xrightarrow{k_2} C2_1 \xrightarrow{k_3} \ldots \xrightarrow{k_n} C_n \xrightarrow{k_{n=1}} \qquad (8.1)$$

где k_i — соответствующие константы скорости переноса электронов.

Пусть в комплексе молекул-переносчиков находится не более одного электрона. В этом случае для комплекса возможны только

следующие состояния:

$$\underset{(1)}{\left(C_1^0 C_2^0 C_3^0 ... C_n^0\right)}, \ \underset{(2)}{\left(C_1^1 C_2^0 C_3^0 ... C_n^0\right)}, \ \underset{(3)}{\left(C_1^0 C_2^1 C_3^0 ... C_n^0\right)}, \ ..., \underset{(n+1)}{\left(C_1^0 C_2^0 C_3^0 ... C_n^1\right)}.$$

Граф переходов комплекса из одного состояния в другое имеет в

$$(1) \xrightarrow{k_1} (2) \xrightarrow{k_2} (3) \xrightarrow{k_3} ... \xrightarrow{k_{n-1}} (n)$$

$$(1) \xleftarrow{k_{n+1}} (n+1) \xleftarrow{k_n} (n) \qquad (8.2)$$

Обозначим, как обычно, через $p_i(t)$ вероятность того, что комплекс переносчиков находится в i-м состоянии в момент времени t. Соответствующая этому графу система дифференциальных уравнений для вероятностей состояний комплекса имеет вид:

$$\begin{aligned} dp_1 / dt &= k_{n+1} p_{n+1} - k_1 p_1, \\ dp_2 / dt &= k_1 p_1 - k_2 p_2, \\ &. \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \\ dp_{n+1} / dt &= k_n p_n - k_{n+1} p_{n+1}, \end{aligned} \qquad (8.3)$$

Стационарные вероятности состояний можно найти из следующей системы алгебраических уравнений, получающейся из уравнений (8.3) приравниванием производных нулю:

$$k_{n+1} p_{n+1} - k_1 p_1 = 0, \ \ k_1 p_1 - k_2 p_2 = 0, \ ..., \ k_n p_n - k_{n+1} p_{n+1} = 0. \ (8.4)$$

Выражая все вероятности p_i, i=1, 2, ..., n+1 через вероятность p_1

$$p_{n+1} = k_1 p_1 / k_{n+1}, \ \ p_2 = k_1 p_1 / k_2, \ p_3 = k_1 p_1 / k_3, ..., p_n = k_1 p_1 / k_n$$

и используя условие нормировки $\sum_j p_j = 1$ получим

$$p_1 = 1/\left(1 + k_1 / k_2 + k_1 / k_3 + ... + k_1 / k_{n+1}\right) = \left(1/k_1\right) / \left(1/k_1 + ... + 1/k_{n+1}\right),$$

откуда для произвольной вероятности p_i имеем

$$p_i = \left(1/k_i\right) / \left(1/k_1 + 1/k_2 + ... + 1/k_{n+1}\right). \qquad (8.5)$$

Отметим, что совершенно аналогичное выражение для вероятностей отдельных состояний справедливо и в восстановительных условиях, когда в комплексе переносчиков находится не более одной «дырки». Действительно, в восстановительных условиях возможны только следующие состояния комплекса

$$\underset{(1)}{\left(C_1^1 C_2^1 C_3^1 ... C_n^1\right)}, \ \underset{(2)}{\left(C_1^1 C_2^1 ... C_n^0\right)}, \ ..., \underset{(n+1)}{\left(C_1^0 C_2^1 C_3^1 ... C_n^1\right)},$$

переходы между которыми описываются графом

$$(1)\xrightarrow{k_{n+1}}(2)\xrightarrow{k_n}(3)\xrightarrow{k_{n-1}}\ldots\xrightarrow{k_3}(n)$$

$$\uparrow^{k_1}\ (n+1)\ \leftarrow^{k_2} \qquad (8.6)$$

Аналогично предыдущему имеем

$$p_i = \frac{1/k_{n-i+2}}{1/k_1 + 1/k_2 + \ldots + 1/k_{n+1}}, \quad i = 1,\ 2, \ldots, n+1. \qquad (8.7)$$

Циклический транспорт

Рассмотрим циклический транспорт электронов в комплексе $n+1$ молекул C_1, …, C_{n+1}. Предположим, что в комплексе находится только один электрон и взаимодействие переносчиков осу-



В рассматриваемом случае возможны только следующие $n+1$ состояния

$$\underset{(1)}{\left(C_1^0 C_2^0 C_3^0 \ldots C_n^0 C_{n+1}^1\right)},\ \underset{(2)}{\left(C_1^1 C_2^0 C_3^0 \ldots C_n^0 C_{n+1}^0\right)},\ \ldots,\ \underset{(n+1)}{\left(C_1^0 C_2^0 C_3^0 \ldots C_n^1 C_{n+1}^0\right)}.$$

Как уже указывалось в гл. 4, в данном случае можно сопоставить данным состояниям комплекса восстановленные формы соответствующих переносчиков и можно записать систему дифференциальных уравнений, замкнутую относительно вероятностей восстановленных форм отдельных переносчиков. Однако уравнения относительно вероятностей редокс-состояний переносчиков являются в данном случае линейными, в отличие от уравнений, которыми описываются обычные окислительно-восстановительные реакции, протекающие в растворе.

Граф состояний для переноса электрона в комплексе согласно схеме (8.8) совпадают с таковым для нециклического транспорта



Поэтому дифференциальные и соответствующие им алгебраические уравнения тождественны таковым для рассмотренного в предыдущем пункте нециклического транспорта электронов. Ста-

ционарные значения вероятностей p_i для схемы (8.9) равны:

$$p_i = \frac{1/k_i}{\sum_j 1/k_j} \qquad (8.10)$$

Таким образом, описание нециклического транспорта электронов в комплексе, состоящем из n переносчиков, при условии, что в комплексе находится не более одного электрона [схема (8.1)], эквивалентно описанию циклического транспорта электронов в комплексе, состоящем из $n+1$ переносчика и происходящего по схеме (8.8).

Это следует из того, что состоянию $\left(C_1^0 C_2^0 C_3^0 ... C_n^0 C_{n+1}^1\right)$ для циклического транспорта можно сопоставить состояние $\left(C_1^0 C_2^0 C_3^0 ... C_n^0\right)$
при нециклическом транспорте, когда все переносчики находятся в окисленной форме. Остальные состояния, в которых восстановлен только i-й переносчик ($i \le n$), у этих двух систем совпадают. В силу изложенного изучать эти системы можно одновременно, поскольку для любой схемы (8.8) циклического транспорта электронов существует нециклический транспорт электронов, происходящий по схеме (8.1). Поэтому все, что справедливо для нециклического транспорта с числом электронов в комплексе меньше двух, с соответствующими изменениями может быть отнесено и к циклическому транспорту с одним электроном. Сказанное далее может быть дословно перенесено на схемы с одной «дыркой» (соответственно циклического и нециклического транспорта).

1. Поскольку стационарные значения вероятностей имеют вид долей, а размерность констант скорости есть c^{-1}, то удобно интерпретировать стационарные вероятности p_i как средние доли пребывания комплекса в соответствующем состоянии (см. гл. 2). Вследствие этого выражение для стационарных вероятностей для рассматриваемых схем можно переписать в виде

$$p_i = \frac{\tau_i}{\sum_j \tau_j} \qquad (8.11)$$

где τ_j — среднее время пребывания комплекса в j-м состоянии.

2. Если число переносчиков велико, то доля времени пребывания в состоянии I уменьшается с увеличением числа переносчиков.

3. Из вида формул (8.5), (8.10) следует, что зависимость стационарных вероятностей от какой-либо константы скорости имеет вид гиперболы. Непосредственным дифференцированием легко убедиться, что график таких зависимостей не может иметь перегибов, а следовательно, в таких системах не могут реализоваться S-образные кривые зависимости p_i от какой-либо константы.

4. Полученные простые аналитические выражения (8.5) в дан-

ном частном случае позволяют ответить на следующий, чрезвычайно важный с точки зрения кинетического анализа, вопрос: как изменяются стационарные значения вероятностей p_i, если увеличить число переносчиков на один с константой скорости «оттока» k? Применяя выражение (8.5) к рассматриваемой ситуации, получим:

$$p_i = \frac{1/k_i}{1/k + \sum_j 1/k_j} = \frac{1/k_i}{\sum_j 1/k_j}\left(1 - \frac{1/k}{1/k + \sum_j 1/k_j}\right), \qquad (8.12)$$

откуда вытекает следующий вывод. Если в своем рассмотрении, мы пренебрегаем переносчиками, то мы а) увеличиваем соответствующие значения вероятностей учтенных переносчиков, предполагая по-прежнему что $\sum_j p_j = 1$; б) делаем погрешность тем большую, чем больше $1/k$. Последнее означает, что в рассматриваемых условиях пренебрежение переносчиками с большими константами скорости «оттока» более правомерно, чем пренебрежение переносчиками с меньшими величинами констант скорости. Для оценки погрешности важна величина

$(1/k)/(\sum_j 1/k_j)$. Если это отношение мало, то мала и

погрешность. Отметим, что величина отношения зависит также и от числа переносчиков.

5. Полученные выше системы дифференциальных уравнений, описывающие циклический и нециклический транспорт электрона, не допускают простого точного решения для произвольного переходного процесса, поскольку характеристические числа зависят от всех констант скорости. Однако если одна из констант скорости равна нулю, то могут быть получены точные формулы для переходного процесса. Последний случай характерен для переноса электронов при фотосинтезе после выключения действующего света и проанализирован нами в гл. 7.

Таким образом, рассмотрение транспорта электронов в окислительных (восстановительных) условиях приводит к очень простым схемам переноса не более чем одного электрона (одной дырки).

8.2. Построение квазисостояний

Основная трудность при анализе переноса электронов в комплексах молекул переносчиков состоит в быстром возрастании числа различных состояний комплекса при увеличении числа переносчиков.

Точное решение исходной системы дифференциальных уравнений практически возможно лишь для небольшого числа переносчиков, в связи с чем могут представлять интерес различные способы приближенного описания функционирования комплекса.

Рассмотренный в предыдущем параграфе метод сводился по существу к изменению констант скорости путем изменения pH, концентрации экзогенных доноров и акцепторов и т. д., таким образом, чтобы рассматривать перенос электронов либо в «пустом», либо в «полном» комплексе. Если же имеется существенная иерархия в значениях констант скорости между компонентами комплекса, то для приближенного анализа кинетики переноса электронов достаточно небольшого числа переменных. Ниже изложен способ упрощенного описания функционирования таких комплексов молекул переносчиков электронов [Шинкарев, 1978; Венедиктов и др., 1979 а, б]. Его основная идея состоит в замене некоторых быстро-усредняющихся множеств состояний квазисостояниями и рассмотрении переходов только между этими новыми квазисостояниями. Возможность выделения квазисостояний определяется иерархией величин констант скорости переходов между состояниями — при варьировании величин констант скорости изменяется и разбиение фазового пространства этого комплекса на квазисостояния.

Очевидно, что некоторые состояния переносчиков, входящих в мультиферментный комплекс, уже изначально могут представлять собой квазисостояния в указанном выше смысле.

Обозначим состояния комплекса 1, 2, ..., n, а вероятность того, что комплекс переносчиков находится в i-м состоянии в момент времени t — через $p_i(t)$; предельное распределение — через p_i.

В ряде случаев в множестве всех состояний комплекса можно выделить такое множество V сообщающихся между собой состояний комплекса, что для каждого состояния этого множества константы скорости перехода в состояния, не принадлежащие V, существенно меньше, чем константы скорости переходов в состояния, принадлежащие V. Тогда комплекс, попав в множество V, достаточно долго пребывает в нем и за время, необходимое для перехода из одного квазисостояния в другое, комплекс успевает «размазаться» по состояниям, составляющим данное квазисостояние. В результате такого усреднения все данное множество состояний V можно заменить одним квазисостоянием и вместо рассмотрения переходов между состояниями рассматривать переходы между квазисостояниями.

Опишем способ разбиения множества всех состояний комплекса на квазисостояния [Фрейдлин, 1977]. Для каждого i-го

$$i \to j_1(i) \to \underset{\uparrow__________________________|}{j_2(i) \to \ldots \to j_s(i) \to \ldots \to j_q(i)}, \quad (8.13)$$

где $j_1(i)$ - состояние, в котором i-е состояние комплекса переходит с наибольшей по порядку величины константой скорости; $j_2(i)$ – состояние, в которое с наибольшей константой скорости переходит $j_1(i)$-е состояние и т. д. Поскольку множество всех

состояний комплекса конечно, то на каком-то (q+1)-м шаге начнутся повторения одних и тех же состояний, т. е. получится некий цикл F. Назовем состояния $i, j_1(i), \ldots, j_{s-1}(i)$ и указанный цикл F квазисостояниями первого ранга, порожденными состоянием i. В результате последовательного применения данной процедуры множество всех состояний комплекса разобьется на квазисостояния первого ранга, которыми являются как построенные циклы, так и состояния комплекса, не входящие ни в один из циклов.

Для того чтобы задать укрупненную цепь, достаточно указать, как вычисляются константы скорости выхода из циклических квазисостояний, поскольку все остальные квазисостояния совпадают с состояниями комплекса. Как легко понять, вычисление констант выхода из квазисостояний нужно производить по следующему плану. Сначала вычисляется стационарное распределение вероятностей на состояниях, принадлежащих некоторому изолированному циклическому квазисостоянию F, при предположении, что существуют только переходы между состояниями, принадлежащими F, а константы скорости переходов в дополнение к этому квазисостоянию равны нулю.

Пусть $p_1, p_2, \ldots, p_r$ есть указанное стационарное распределение вероятностей на F; r — число состояний в F. Тогда константа скорости перехода из F, в не принадлежащее F состояние, с номером m имеет вид

$$k_{F,m} \sim \sum_{j=1}^{r} k_{jm} p_j \tag{8.14}$$

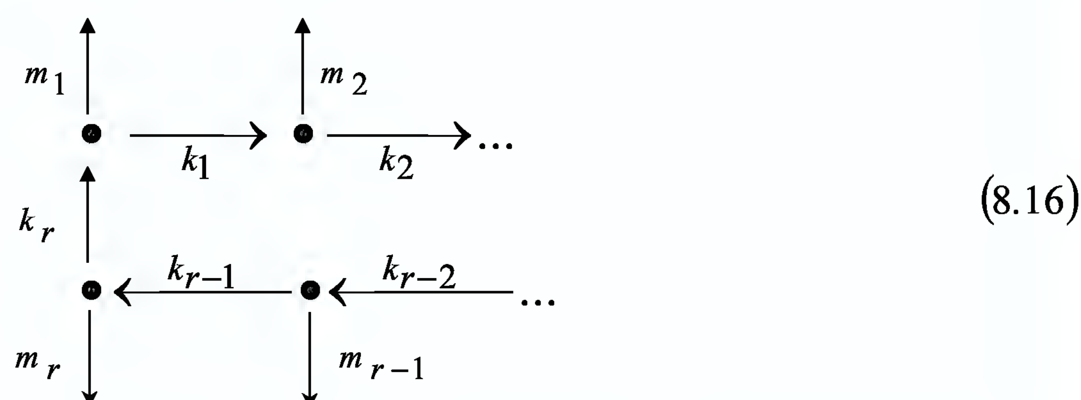
где k_{jm} — константы скорости перехода из состояния $j \in F$ в состояние m, $m \notin F$. Из формулы (8.14) следует, что среднее время выхода из данного квазисостояния F равно

$$\tau \sim \frac{1}{\sum_m k_{F,m}}. \tag{8.15}$$

Если имеется иерархия величин констант скорости переходов между уже построенными квазисостояниями первого ранга, то можно получить квазисостояния второго ранга, применив указанную процедуру к квазисостояниям первого ранга и т. д.

Полученная редуцированная цепь также является марковской, но с новыми константами переходов между квазисостояниями [Королюк, Турбин, 1976]. Эффективность процедуры выделения квазисостояний, очевидно, связана с иерархией величин констант скорости; чем больше по порядку отличаются величины констант скорости, тем точнее функционирование комплекса описывается через квазисостояния. Поясним это на примере. Оценка приближения может быть получена из сравнений вероятности остаться после одного «оборота» в данном циклическом квази-

состоянии F с вероятностью выхода из него. Пусть квазисостоя-



(8.16)

где m_i — константы скорости выхода из данного квазисостояния, κ_f— соответствующие константы скорости перехода в состояния, принадлежащие данному квазисостоянию F. Тогда вероятность остаться в данном квазисостоянии за один «оборот», исходя, например, из 1-го состояния, равна

$$\frac{k_1}{k_1+m_1}\cdot\frac{k_2}{k_2+m_2}\cdot\ldots\cdot\frac{k_r}{k_r+m_r}.$$

Выделение данного квазисостояния оправдано, если эта величина близка к единице.

Следует отметить, что предложенная конструкция [см. также: Вентцель, Фрейдлин, 1979], с одной стороны, представляет перенесение на случайный процесс принципа усреднения [Боголюбов, Митропольский, 1974], а с другой — если перейти к рассмотрению распределения этого процесса, то она является аналогом известной теоремы Тихонова о быстрых и медленных переменных [Васильева, Бутузов, 1973]. В частном случае стационарной ферментативной кинетики подобный метод был предложен в работе [Cha, 1968], где квазисостояниям отвечали участки «быстрого наступления равновесия».

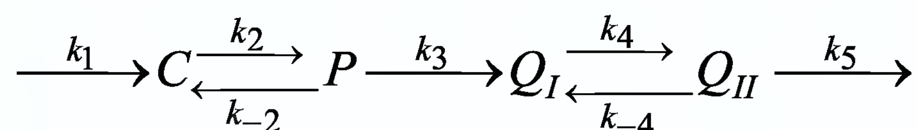
8.3. Состояния комплекса, достижимые за время наблюдения

Число различных состояний комплекса экспоненциально возрастает при увеличении числа переносчиков, однако при заданном соотношении величин констант скорости не все из возможных состояний комплекса реализуются за время наблюдения. Очевидно, что, чем меньше рассматриваемый промежуток времени, тем меньшее число состояний комплекса может быть достигнуто исходя из некоторого фиксированного начального состояния. Оценив время выхода из квазисостояния F, можно указать то множество квазисостояний, которое доступно комплексу на данных временах рассмотрения. Следовательно, множество состояний, которое необходимо рассматривать для описания функционирования комплекса, зависит как от начальных условий, так и от времени наблюдения за комплексом. Часто начальные условия таковы, что за интересующее нас время комплекс, изначально находясь в каком-то квазисостоянии F, не успевает выйти из него, и тогда для описания работы такого комплекса достаточно ограничиться множеством состояний, принадлежащих F. Рассмотрение только переходов между состояниями F представляет собой значительное упрощение.

Таким образом, на малых временах достаточно рассмотрения небольшого числа состояний, в которые комплекс может попасть за это время; на больших интервалах времени увеличивается число состояний, доступных комплексу, однако при описании функционирования комплекса уже возможен переход от состояний к квазисостояниям и рассмотрение эволюции квазисостояний. Следовательно, несмотря на увеличение числа доступных комплексу состояний, удается уменьшить объем фазового пространства путем введения квазисостояний.

8.4. Пример. Нециклический транспорт электронов в хроматофорах пурпурных бактерий

В качестве иллюстрации применения метода, изложенного в разделе 8.3, рассмотрим нециклический транспорт электронов в хроматофорах пурпурных бактерий, который осуществляется согласно следующей схеме [Dutton, Prince, 1978; Blankenship,



Здесь С — цитохром: P — фотохимически активный пигмент реакционного центра (димер бактериохлорофилла *a,* P870); Q_{I}, Q_{II}— соответственно, первичный и вторичный хиноны; k_1, k_5— псевдомономолекулярные константы скорости, пропорциональные концентрации экзогенного донора и акцептора соответственно; k_3 — константа скорости, пропорциональная интенсивности действующего света; k_{-2}, k_2, k_{-4}, k_4 — соответствующие константы скорости переноса электронов между цитохромом и пигментом, а также между Q_{I} и Q_{II}. Предполагается, что все указанные переносчики входят в единый комплекс. Для простоты рассмотрим только окислительно-восстановительные реакции переносчиков. Перенос электронов в реакционном центре, происходящий согласно схеме (8.17), может быть описан исходя из графа состояний комплекса, представленного на рис. 39 (см. также гл. 3). 0(1) на рисунке означает, что соответствующий переносчик электронов окислен (восстановлен). Согласно данным, представленным в гл. 1, для констант скорости справедливы следующие соотношения

$$k_2 >> k_{-2} \geq k_4 > k_{-4} >> k_1 \sim k_3 \sim k_5, \qquad (8.18)$$

так как $k_2 \sim 10^6$, $k_{-2} \sim 10^4$, $k_4 \sim 10^4$, $k_{-4} \sim 10^3$, $k_1 \sim 0{,}1$— 10, $k_3 \sim 0$— 10^2, $k_5 \sim 0{,}1$— 10 с$^{-1}$.

Поскольку константы скорости обратных реакций на стадиях $C \rightleftarrows P$ и $Q_I \rightleftarrows Q_{II}$ достаточно велики, то циклическими квазисостояниями первого ранга будут, очевидно, только квазисостояния, содержащие не более чем два состояния. На рис. 39 для наглядности обведены все квазисостояния первого ранга. Новый размеченный граф квазисостояний примет вид, указанный на

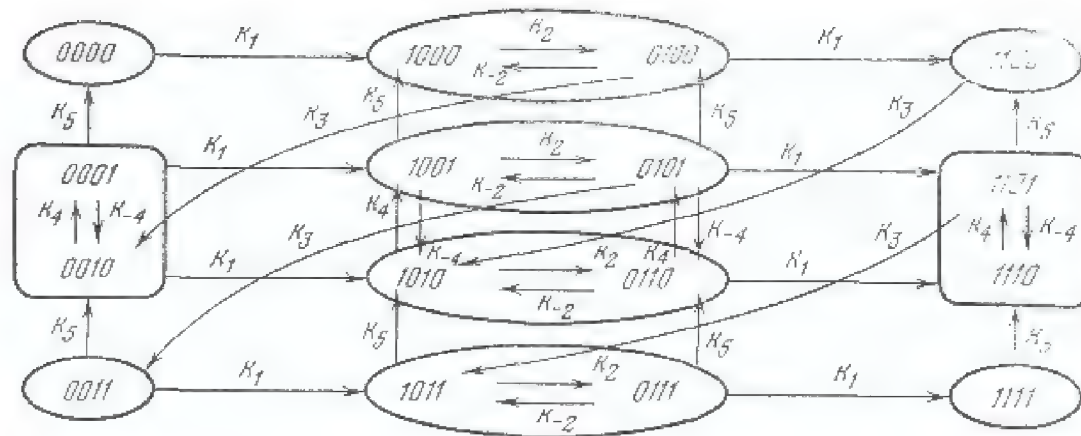


Рис. 39. Граф переноса электронов в комплексе четырех переносчиков,

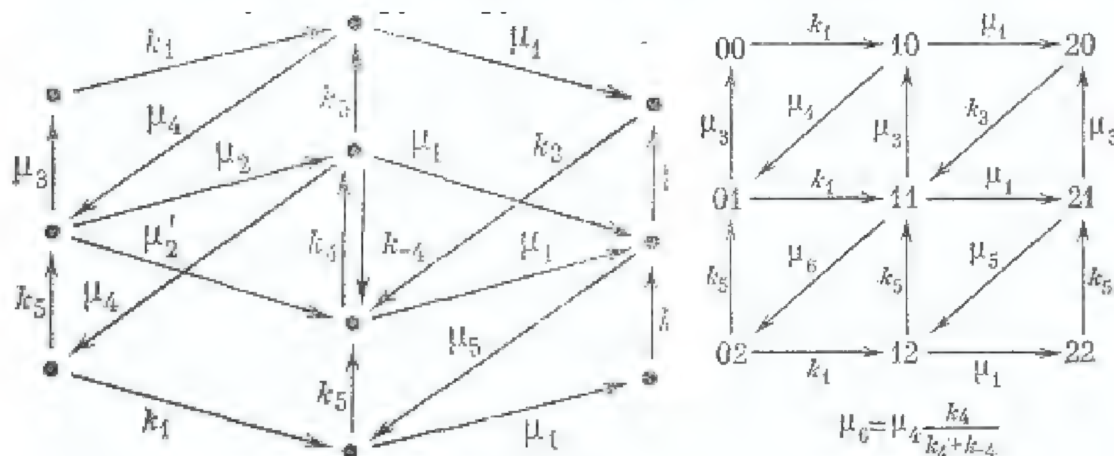


Рис. 40. Граф перехода комплекса ФРЦ, учитывающего квазисостояния 1-го ранга

Рис. 41. Схема транспорта электронов между двумя двухэлектронными переносчиками

рис. 40, где новые константы скорости μ_i вычисляются в соответствии с указанным выше правилом (8.14) и равны

$$\mu_1 = k_1 \frac{k_2}{k_2 + k_{-2}}; \ \mu_2 = k_1 \frac{k_4}{k_4 + k_{-4}}; \ \mu_2' = k_1 \frac{k_{-4}}{k_4 + k_{-4}};$$
$$\mu_3 = k_5 \frac{k_4}{k_4 + k_{-4}}; \ \mu_4 = k_3 \frac{k_2}{k_2 + k_{-2}}; \ \mu_5 = k_3 \frac{k_{-4}}{k_4 + k_{-4}}. \tag{8.19}$$

Ввиду того, что константы скорости для перехода ($Q_I \rightleftarrows Q_{II}$) существенно больше всех остальных констант скорости на рис. 40, то целесообразно заранее объединить эту пару в одно квазисостояние. В результате получим граф квазисостояний, представленный на рис. 41. Отметим, что граф, представленный на рис. 41, соответствует схеме переноса электронов между двумя двухэлек-

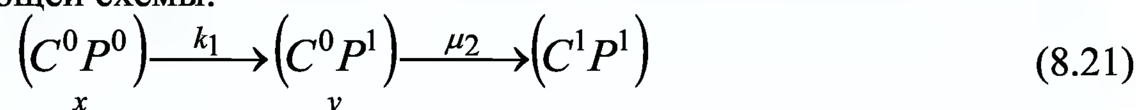
тронными переносчиками R_1 и R_2, которые взаимодействуют по схеме



$$\to R_1 \to R_2 \to \qquad (8.20)$$

Каждый из переносчиков R_1 и R_2 может находиться в трех различных состояниях: 0 — полностью окисленном, 1—частично восстановленном и 2 — полностью восстановленном.

Фактически граф, представленный на рис. 41, уже достаточно прост для того, чтобы по нему рассчитать стационарное распределение вероятностей состояний, а также процесс темнового восстановления (k_3 = 0). Так, процесс темнового восстановления цитохрома и пигмента могут быть рассчитаны исходя из следующей схемы:



$$\underset{x}{\left(C^0P^0\right)} \xrightarrow{k_1} \underset{y}{\left(C^0P^1\right)} \xrightarrow{\mu_2} \left(C^1P^1\right) \qquad (8.21)$$

Решая систему дифференциальных уравнений, соответствующую этой схеме

$$\begin{aligned} dx/dt &= -k_1 x, \\ dy/dt &= k_1 x - \mu_2 y, \end{aligned} \qquad (8.22)$$

найдем

$$\begin{aligned} x &= x(0)e^{-k_1 t}, \\ y &= \frac{k_1 x(0)}{\mu_2 - k_1} e^{-k_1 t} + \left(y(0) - \frac{k_1 x(0)}{\mu_2 - k_1} \right) e^{-\mu_2 t}. \end{aligned} \qquad (8.23)$$

Следовательно, процесс темнового восстановления цитохрома и пигмента списывается следующим образом:

$$\begin{aligned} P(C^0) &= P(C^0P^0) + P(C^0P^1) = x + y = \\ &= x(0)\frac{\mu_2}{\mu_2 - k_1} e^{-k_1 t} + \left(y(0) - \frac{k_1 x(0)}{\mu_2 - k_1} \right) e^{-\mu_2 t}. \end{aligned} \qquad (8.24)$$

$$P(P^0) \cong P(C^0P^0) = x = x(0)e^{-k_1 t}, \qquad (8.25)$$

где $x(0)$, $y(0)$ —стационарные значения вероятностей (C^oP^o) и (C^oP^1), рассчитанных исходя из графа, представленного на рис. 41.

Граф на рис. 41, а следовательно, и решение, полученное с его помощью, очевидно служат хорошим приближением для первоначальной схемы рис. 39 с времен ~0,01 с. На меньших временах, принимая во внимание, что в начальный момент времени t=0, комплекс с вероятностью, близкой к единице, находится в состоянии 1100, эволюция комплекса ограничена меньшим числом состояний и кинетика описывается цепью небольшого числа

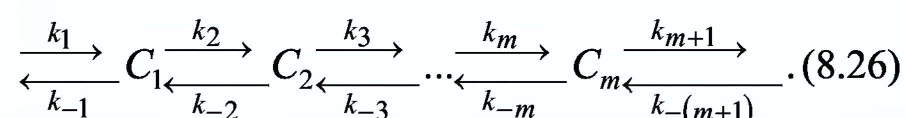


$$X_1 \to X_2 \to \ldots$$

8.5. Сведение большого числа одноэлектронных переносчиков к меньшему числу многоэлектронных переносчиков

В этом параграфе излагается метод упрощения системы дифференциальных уравнений, описывающей перенос электронов в комплексах молекул переносчиков. Физический смысл метода состоит в замене большого числа одноэлектронных переносчиков, входящих в комплекс, меньшим числом многоэлектронных переносчиков. Приведенный метод является частным случаем метода, изложенного ранее, однако имеет самостоятельное значение, поскольку укрупнение производится непосредственно на уровне состояний отдельных переносчиков, а не на уровне состояний комплекса как целого [Шинкарев, 1978; Венедиктов и др., 1979б].

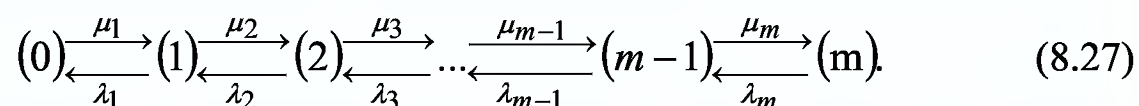
Рассмотрим перенос электронов в комплексе m одноэлектронных переносчиков C_1, C_2, ... C_m, происходящий согласно



$$\underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} C_1 \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} C_2 \underset{k_{-3}}{\overset{k_3}{\rightleftarrows}} \ldots \underset{k_{-m}}{\overset{k_m}{\rightleftarrows}} C_m \underset{k_{-(m+1)}}{\overset{k_{m+1}}{\rightleftarrows}}. \quad (8.26)$$

Здесь k_2, k_{-2}, … , k_m, k_{-m}— мономолекулярные константы скорости переноса электронов в комплексе; k_1, k_{-1}, k_{m+1}, $k_{-(m+1)}$— псевдомономолекулярные константы скорости, пропорциональные концентрации экзогенных доноров и акцепторов в соответствующей форме.

Пусть кинетические константы скорости k_1, k_{-1}, k_{m+1}, $k_{-(m+1)}$ обмена комплекса со средой существенно меньше, чем константы скорости переноса электронов внутри комплекса. Тогда электрон, попав в такой комплекс, быстро «размазывается» по переносчикам, прежде чем произойдет изменение числа электронов в комплексе. Следовательно, на временах, больших, чем время, необходимое для такого усреднения, комплекс переносчиков приближенно можно рассматривать как один m электронный переносчик, поскольку знания числа электронов, находящихся в данный момент в комплексе, достаточно, чтобы найти редокс-состояния отдельных переносчиков, входящих в комплекс. Этот многоэлектронный переносчик (R) может переходить из одного состояния в другое по следующей схеме:



$$(0) \underset{\lambda_1}{\overset{\mu_1}{\rightleftarrows}} (1) \underset{\lambda_2}{\overset{\mu_2}{\rightleftarrows}} (2) \underset{\lambda_3}{\overset{\mu_3}{\rightleftarrows}} \ldots \underset{\lambda_{m-1}}{\overset{\mu_{m-1}}{\rightleftarrows}} (m-1) \underset{\lambda_m}{\overset{\mu_m}{\rightleftarrows}} (\mathrm{m}). \quad (8.27)$$

Цифрами на этой схеме обозначено число электронов, находящееся в комплексе, т. е. восстановленность введенного многоэлектронного переносчика, а константы μ_s, λ_s, зависят как от констант скорости k_1, k_{-1} и k_{m+1}, $k_{-(m+1)}$ соответственно, так и от стационарных вероятностей тех состояний, из которых комплекс переходит с этими константами скорости. Отметим, что именно в реакциях с константами скорости μ_s, λ_s, s=1, ..., m происходит изменение числа электронов в комплексе.

Таким образом, вместо 2^m состояний, соответствующих m одноэлектронным переносчикам, рассматривается только $m+1$ состояние, соответствующее одному m-электронному переносчику. Система дифференциальных уравнений, отвечающая переходам этого многоэлектронного переносчика R, содержит только $m + 1$ переменное и имеет вид

$$\begin{aligned}
\dot{x}_0 &= \lambda_1 x_1 - \mu_1 x_0, \\
\dot{x}_1 &= \mu_1 x_0 + \lambda_2 x_2 - (\lambda_1 + \mu_2) x_1, \\
&\dots\dots\dots\dots \\
\dot{x}_m &= \mu_m x_{m-1} - \lambda_m x_m,
\end{aligned} \tag{8.28}$$

где x_l—вероятность того, что многоэлектронный переносчик R имеет l электронов.

Каждому состоянию такого многоэлектронного переносчика с фиксированным числом электронов соответствует несколько различных состояний комплекса, отличающихся друг от друга распределением электронов между отдельными переносчиками. За время существенно меньшее, чем время, необходимое для изменения числа электронов в комплексе, в такой группе состояний с фиксированным числом электронов успевает установиться равновесие. Поэтому для определения новых констант скорости переходов μ_s, λ_s, для схемы (8.27) можно рассмотреть равновесие в следующей системе m одноэлектронных переносчиков $C_1,\dots, C_m$, содержащей ровно s электронов и взаимодействующих по схеме

$$C_1 \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} C_2 \underset{k_{-3}}{\overset{k_3}{\rightleftarrows}} C_3 \rightleftarrows \dots \underset{k_{-m}}{\overset{k_m}{\rightleftarrows}} C_m. \tag{8.29}$$

Обозначим через $P\left(C^1_{q,s}\right)$вероятность того, что в комплексе переносчиков с фиксированным числом электронов (s) и взаимодействующих друг с другом согласно схеме (8.29), C_q-й переносчик находится в восстановленном состоянии. Тогда новые константы скорости μ_s и λ_s, для схемы (8.27) могут быть найдены согласно следующим формулам:

$$\begin{aligned}
\mu_s &= k_1 P(C^0_{1,s-1}) + k_{-(m+1)} P(C^0_{m,s-1}), \\
\lambda_s &= k_{-1} P(C^1_{1,s}) + k_{(m+1)} P(C^1_{m,s}).
\end{aligned} \tag{8.30}$$

Стационарные вероятности $P\left(C^0_{1,s}\right)$, $P\left(C^1_{1,s}\right)$, $P\left(C^0_{m,s}\right)$, $P\left(C^1_{m,s}\right)$ можно найти из следующей системы уравнений, получающейся применением принципа детального равновесия к схеме (8.29):

$$\begin{aligned}
&K_2 P(C^1_1 C^0_2) = P(C^0_1 C^1_2) \\
&K_2 P(C^1_1 C^0_2) = P(C^0_1 C^1_2) \\
&\dots\dots\dots\dots \\
&K_m P(C^1_{m-1} C^0_m) = P(C^0_{m-1} C^1_m),
\end{aligned} \tag{8.31}$$

где $K_i = k_i / k_{-i}$ - соответствующие константы равновесия, а $P(C_i^1 C_j^0)$ есть стационарная вероятность того, что C_i-й переносчик электронов восстановлен, а C_j-й окислен.

Каждое из уравнений этой системы эквивалентно на самом деле $\binom{m-2}{s-1} = \frac{(m-2)!}{(m-s-1)!(s-1)!}$ уравнениям относительно стационарных вероятностей состояний комплекса как целого. Например, первое уравнение системы (8.31) эквивалентно следующей системе уравнении

$$K_2 P(C_1^1 C_2^0 C_{i_2}^1 C_{i_3}^1 \dots C_{i_s}^1) = P(C_1^0 C_2^1 C_{i_2}^1 C_{i_3}^1 \dots C_{i_s}^1). \quad (8.32)$$

Здесь i_r, означает номер переносчиков, которые восстановлены, а события ($C_1^1 C_2^0 C_{i_2}^1 C_{i_3}^1 \dots C_{i_s}^1$) означают, что первый, i_2, i_3, ..., i_s, переносчики восстановлены, а остальные (m—s) окислены.

Рассмотрим произвольное состояние комплекса с s электронами (i_1, i_2, ..., i_s), где, как и ранее, i_k указывает переносчик, на котором находится k-й электрон. Для того чтобы комплекс из состояния (1, 2, ..., s) перешел в состояние (i_1, i_2, ..., i_s), нужно, чтобы s-й электрон перешел на i_s-е место, ..., 1-й электрон перешел на i_1-е место. Учитывая справедливость принципа детального равновесия для схемы (8.29) и также то, что каждому переходу электрона соответствует определенная константа равновесия, а последовательно осуществляемым переходам - произве-

$$p_{i_1 i_2 \dots i_s} = (K_{s+1} \cdot K_{s+2} \cdot \dots \cdot K_{i_s})(K_s \cdot K_{s+1} \cdot \dots \cdot K_{i_s - 1}) \cdot \dots \cdot$$
$$\cdot (K_3 \cdot K_4 \cdot \dots \cdot K_{i_2})(K_2 \cdot K_3 \cdot \dots \cdot K_{i_1}) p_{12\dots s}$$

Или, что то же,

$$p_{i_1 i_2 \dots i_s} = \prod_{r=1}^{s} \left(\prod_{q=r+1}^{i_r} K_q \right) p_{12\dots s}. \quad (8.33)$$

Подставляя полученные выражения для вероятностей состояний комплекса в условие нормировки $\sum_i p_i = 1$, получим

$$p_{12\dots s} = \frac{1}{1 + \sum\limits_{1 \le i_1 \le i_2 \le \dots \le i_s \le n} \prod\limits_{r=1}^{s} \left(\prod\limits_{q=r+1}^{i_r} K_q \right)}. \quad (8.34)$$

Откуда с учетом (8.33) несложно найти выражение для произвольной вероятности $p_{i_1 i_2 \dots i_s}$, а следовательно, и выражение для вероятностей редокс-состояний отдельных переносчиков, входя-

щих в комплекс, просуммировав вероятности тех состояний комплекса с фиксированным числом электронов, в которых рассматриваемый переносчик находится в интересующем нас состоянии. Таким образом, системы уравнений (8.31), вместе с условием нормировки для стационарных героятностей состояний комплекса с фиксированным числом электронов, достаточны для

$P\left(C_{1,s}^0\right)$, $P\left(C_{1,s}^1\right)$, $P\left(C_{m,s}^0\right)$, $P\left(C_{m,s}^1\right)$

Для вычисления новых констант скорости μ_s и λ_s, в схеме (8.27) необходимо, согласно формуле (8.30), стационарные вероятности умножить на те константы скорости, которые приводят к изменению числа электронов в комплексе.

Так, например, для случая, когда в комплексе находится только один электрон (s=1), имеем следующую схему переходов между состояниями комплекса:

$$(10...0)\underset{K_{-2}}{\overset{K_2}{\rightleftarrows}}(010...0)\underset{K_{-3}}{\overset{K_3}{\rightleftarrows}}...\underset{K_{-m}}{\overset{K_m}{\rightleftarrows}}(0...01). \tag{8.35}$$

В данном случае отдельные состояния комплекса можно отождествить с восстановленными формами соответствующих переносчиков. Решая систему уравнений (8.31) для схемы (8.35), на-

$$P\left(C_{1,1}^1\right)=\frac{1}{1+\rho_2+\rho_3+...+\rho_m};\ \ P\left(C_{i,1}^1\right)=\frac{\rho_i}{1+\rho_2+\rho_3+...+\rho_m},$$

где $\rho_i = K_2 K_3 \cdot ... \cdot K_i,\ \ 1 < i \le m.$

Следовательно,

$$P\left(C_{1,1}^0\right)=1-P\left(C_{1,1}^1\right)=\frac{\rho_2+\rho_3+...+\rho_m}{1+\rho_2+\rho_3+...+\rho_m},$$

$$P\left(C_{m,1}^0\right)=1-P\left(C_{m,1}^1\right)=\frac{1+\rho_2+\rho_3+...+\rho_{m-1}}{1+\rho_2+\rho_3+...+\rho_m},$$

и константы скорости μ_s и λ_s равны

$$\mu_2 = k_1 P\left(C_{1,1}^0\right)+k_{-(m+1)}P\left(C_{m,1}^0\right)=$$

$$=\frac{k_1(\rho_2+\rho_3+...+\rho_m)+k_{-(m+1)}(1+\rho_2+\rho_3+...+\rho_m)}{1+\rho_2+\rho_3+...+\rho_m},$$

$$\lambda_1 = k_{-1}P\left(C_{1,1}^1\right)+k_{m+1}P\left(C_{m,1}^1\right)=\frac{k_{-1}+k_{m+1}\rho_m}{1+\rho_2+\rho_3+...+\rho_m}.$$

Если стадии переноса электрона внутри комплекса практически необратимы (k_{-2} = k_{-3}= ... = k_{-m}= 0), то возможны только следующие состояния комплекса: (0 ... 01), (0 ... 011), (0 ... 0111), ..., (01...1), (1...1), относительная вероятность которых в группе состояний с фиксированным числом электронов близка к единице. Ввиду необратимости, а также того, что всю группу с фикси-

рованным числом электронов представляет только одно состояние, параметры μ_s, λ_s равны соответственно k_1 и k_{m+1}. В этом случае схема переходов (8.27) примет особенно простой вид

$$0 \underset{k_{m+1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} 1 \underset{k_{m+1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} \ldots (m-1) \underset{k_{m+1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} m \tag{8.36}$$

Очевидно, что приведенный в этом параграфе метод упрощенного рассмотрения переноса электронов справедлив на временах, больших, чем время, необходимое для «размазывания» электрона по комплексу, и тем более точен, чем больше отличаются по порядку величины констант скорости переноса электрона внутри комплекса от констант скорости обмена комплекса со средой. Ясно также, что он может быть применен к произвольной схеме взаимодействия переносчиков, а не только к линейной, как в рассмотренном случае. Если для переноса электронов в комплексе, состоящем из большого числа переносчиков, имеется иерархия в величинах констант скорости переноса электронов между ними, то, последовательно применяя указанный метод укрупнения к группе рядом расположенных переносчиков, константы скорости у которых существенно больше, чем константы скорости обмена электронами между группами, можно свести описание функционирования такого комплекса к переносу электронов между меньшим числом многоэлектронных переносчиков (на временах, больших, чем время, необходимое для усреднения электронов между переносчиками такой группы).

Заключение

В данной главе мы рассмотрели методы упрощенного описания переноса электронов в комплексах. При этом были использованы два подхода для анализа такого рода систем.

В первом — предполагается, что комплекс переносчиков электронов уже исходно устроен так, что в нем реализуется определенная иерархия величин констант скорости. В этом случае для описания кинетики переноса электронов необходимо использовать различные стандартные методы исследования систем дифференциальных уравнений с малым параметром. Дополнительные возможности для упрощения дает то обстоятельство, что интересующие нас состояния отдельных переносчиков представляют собой сумму состояний комплекса. Поэтому во многих случаях можно пренебречь большей частью слагаемых этой суммы ввиду их малости. В качестве примера такого рода подхода можно привести анализ кинетического поведения ФРЦ пурпурных бактерий (см. подробнее гл. 9). В реакционном центре уже изначально имеется определенная иерархия величин констант скорости переноса электронов между отдельными переносчиками. Эта иерархия приводит к тому, что для описания переноса электронов на временах, сопоставимых с частотой попадания воз-

буждений в ФРЦ можно не рассматривать быстрые внутрикомплексные переходы (см. гл. 10, 11).

Во втором подходе иерархия величин констант скорости и начальные условия экспериментально изменяются таким образом, чтобы максимально упростить рассматриваемую систему и сделать ее доступной для изучения. Примером этого подхода можно считать рассмотрение транспорта электронов в условиях, когда происходит перенос лишь небольшого числа электронов (дырок). В этом случае, естественно, невелико и число различных изменяющихся во времени состояний комплекса. Перечислим кратко различные, не исключающие друг друга, экспериментальные условия такого рода:

а) создание окислительных (восстановительных) условий, когда электроны (дырки) так редко поступают в комплекс, что можно пренебречь возможностью наличия в комплексе двух электронов (дырок) и рассматривать перенос только не более чем одного электрона (одной дырки) (см. гл. 12);

б) создание неравновесных условий за счет переноса лишь небольшого числа (1—2) электронов в комплексе. Типичным примером такого рода условий является активация ФРЦ короткой вспышкой света;

в) создание таких условий (с помощью ингибиторов, редокс-потенциала среды, pH, температуры, редокс-медиаторов), при которых перенос электронов ограничен лишь небольшим числом переносчиков. Типичным примером такого рода является рассмотрение переноса электронов в восстановительных условиях в реакционных центрах фотосинтеза, когда часть акцепторов электронов реакционного центра уже исходно восстановлена до активации реакционного центра светом.

Совершенно очевидно, что целесообразно сочетать оба рассмотренных подхода.

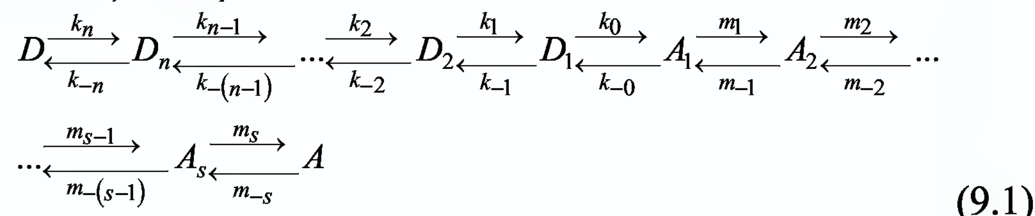
Глава 9

КИНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРАХ

В главе рассмотрены особенности кинетического описания транспорта электронов при фотосинтезе. Построена упрощенная кинетическая модель переноса электронов в ФРЦ, которая учитывает как организацию переносчиков электронов в комплекс, так и имеющуюся иерархию в величинах констант скорости переноса электронов на отдельных этапах (10^2—10^{11} $с^{-1}$). Рассмотрена симметрия в переносе электронов на донорной и акцепторной сторонах ФРЦ.

9.1. Обоснование модели

В общем виде схема переноса электронов в ФРЦ фототрофных бактерий, а также в фотосистемах I и II высших растений может быть представлена следующим образом [см. гл. 1, а также: Barber, 1978; Шинкарев, Рубин, 1981; Шувалов, Красновский, 1981].



$$D \underset{k_{-n}}{\overset{k_n}{\rightleftarrows}} D_n \underset{k_{-(n-1)}}{\overset{k_{n-1}}{\rightleftarrows}} \ldots \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} D_2 \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} D_1 \underset{k_{-0}}{\overset{k_0}{\rightleftarrows}} A_1 \underset{m_{-1}}{\overset{m_1}{\rightleftarrows}} A_2 \underset{m_{-2}}{\overset{m_2}{\rightleftarrows}} \ldots$$

$$\ldots \underset{m_{-(s-1)}}{\overset{m_{s-1}}{\rightleftarrows}} A_s \underset{m_{-s}}{\overset{m_s}{\rightleftarrows}} A \qquad (9.1)$$

В этой схеме D_1 ..., D_n—переносчики электронов, находящиеся на донорной стороне; A_1, ..., A_s—переносчики электронов, находящиеся на акцепторной стороне ФРЦ; D, A — внешние донор и акцептор электронов; k_i, k_{-i}, m_j, m_{-j} (i=1, 2, ...,n; j=1, ..., s)—соответствующие константы скорости прямых и обратных реакций переноса электронов. Константа скорости световой стадии k_0 считается пропорциональной интенсивности действующего света; ее более подробное определение приведено в следующем параграфе.

Число компонентов, входящих в состав ФРЦ, как правило, не менее 3—5. Однако из-за математических трудностей обычно анализируют только модель ФРЦ с двумя переносчиками [Сорокин, 1973; 1976а, б]. Вместе с тем известные в настоящее время особенности функциональной организации ФРЦ позволяют сформулировать общую кинетическую модель, описывающую транспорт электронов в реакционных центрах, без существенных ограничений на число переносчиков электронов.

Общими чертами в функциональной организации реакционных центров фотосинтезирующих бактерий, а также, по-видимому, реакционных центров фотосистем I и II зеленых растений являются следующие [Шинкарев, Рубин, 1981]:

А. Ближайшее донорно-акцепторное окружение ФРЦ представляет собой единый комплекс молекул переносчиков, в котором задана строгая последовательность переноса электронов.

Б. Среднеточечные редокс-потенциалы соседних переносчиков электронов, находящихся на донорной и акцепторной сторонах реакционного центра, отличаются, как правило, не менее чем на 60—100 мВ. Это означает, что все константы равновесия k_i/k_{-i}, $m_j/\ m_{-j}$ (i=1, 2, ..., n—1; j=1,2,..., s—1) на схеме (9.1) больше 10 и, следовательно, при анализе кинетики переноса электронов можно пренебречь константами скорости обратных реакций k_{-i},, m_{-j}. Кроме того, редокс-потенциалы переносчиков D_1, D_2,..., D_n выше потенциалов переносчиков A_1, A_2, ..., A_s (рис. 42).

В. Величины констант скорости переноса электронов на соседних участках донорной и акцепторной сторон реакционного

центра отличаются друг от друга не менее чем на 2—4 порядка:

$$k_{i-1} \geq \left(10^2 - 10^4\right) k_i, \ (i=2, 3, \ldots, n\text{-}1),$$

$$m_{j-1} \geq \left(10^2 - 10^4\right) m_j, \ (j=2, 3, \ldots, s\text{-}1),$$

Наряду с учетом описанных общих черт организации реакционных центров в дальнейшем мы будем предполагать следующее.

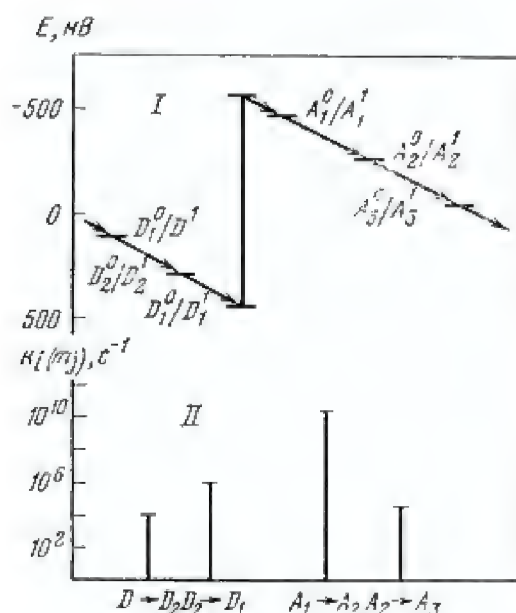
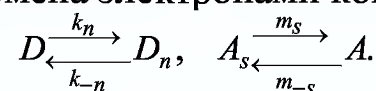


Рис. 42. Схема переноса электронов в фотосинтетическом реакционном центре (*I*) и величина логарифма констант скорости соответствующих переходов (*II*)

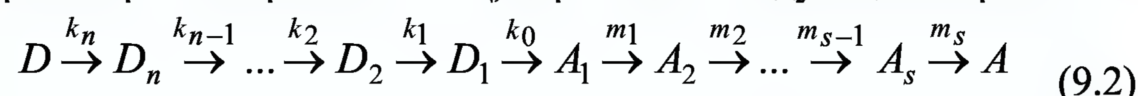
Объяснения в тексте

1. Редокс-потенциалы внешних доноров и акцепторов таковы, что условия необратимости выполняются также на участках обмена электронами комплекса реакционного центра со средой:



$$D \underset{k_{-n}}{\overset{k_n}{\rightleftarrows}} D_n, \quad A_s \underset{m_{-s}}{\overset{m_s}{\rightleftarrows}} A.$$

Это позволяет с учетом пункта Б схему (9.1), описывающую транспорт электронов в ФРЦ, переписать следующим образом:



$$D \overset{k_n}{\rightarrow} D_n \overset{k_{n-1}}{\rightarrow} \ldots \overset{k_2}{\rightarrow} D_2 \overset{k_1}{\rightarrow} D_1 \overset{k_0}{\rightarrow} A_1 \overset{m_1}{\rightarrow} A_2 \overset{m_2}{\rightarrow} \ldots \overset{m_{s-1}}{\rightarrow} A_s \overset{m_s}{\rightarrow} A \qquad (9.2)$$

На этой схеме константы скорости k_n и m_s являются псевдомономолекулярными константами скорости, пропорциональными соответственно концентрации донора D в восстановленной форме и концентрации акцептора A в окисленной форме, в отличие от мономолекулярных констант скорости $k_0, k_1, \ldots, k_{n-1}, m_1, m_2, \ldots, m_{s-1}$.

2. Концентрации внешних доноров и акцепторов таковы, что для рассматриваемых отрезков времени функционирования ФРЦ их можно считать постоянными; кроме того, для псевдомономолекулярных констант скорости обмена электронами реакционного центра со средой справедливы соотношения $k_n \ll k_{n-1}$, $m_s \ll m_{s-1}$.

3. Кооперативность в переносе электронов не нарушает соотношений, описанных в пунктах 1 и 2, и ею можно пренебречь.

Как уже неоднократно указывалось ранее (см. гл. 3, 4), для описания переноса электронов в комплексе необходимо учитывать состояния комплекса как целого. Обозначим состояния ФРЦ через 1, 2, ..., l и введем вероятность $p_r(t)$ того, что комплекс переносчиков находится в r-м состоянии в момент времени t.

Тогда (см. гл. 3) для введенных вероятностей справедлива система линейных дифференциальных уравнений

$$\frac{dp_r}{dt} = \sum_{j=1}^{l} \left(k_{jr} p_j - k_{rj} p_r \right), \quad r = 1, \ldots, l \tag{9.3}$$

где k_{jr}—константа скорости переноса электрона, соответствующая переходу между j-м и r-м состояниями ФРЦ. Решив систему дифференциальных уравнений (9.3) с соответствующими начальными условиями, можно найти и вероятность редокс-состояний (восстановленности) любого переносчика ФРЦ, просуммировав вероятности всех тех состояний комплекса, в которые входит этот переносчик в интересующем нас состоянии (восстановленном).

С экспериментальной точки зрения наибольший интерес представляет рассмотрение зависимости степени восстановленности переносчиков электронов, входящих в состав ФРЦ, от концентрации экзогенных доноров, акцепторов и от величины интенсивности действующего света. Кроме того, важной характеристикой является стационарная скорость переноса электронов через реакционный центр. Особый интерес представляет рассмотрение переходных процессов, индуцированных включением и выключением действующего света различной длительности.

Оказывается, что в рамках изложенной кинетической модели переноса электронов в ФРЦ удается рассчитать все названные выше характеристики.

9.2. Задание световой константы скорости

Отличительной чертой переноса электронов при фотосинтезе является наличие световой стадии, в которой энергия света используется для того, чтобы перенести электрон от первичного донора к первичному акцептору (см. схему 9.1).

В связи с этим в данном параграфе рассматриваются способы задания световой константы скорости k_0 для различных режимов освещения.

Первичные процессы переноса электронов в ФРЦ протекают чрезвычайно быстро, часто в пикосекундном диапазоне [см., например: Шувалов, Красновский, 1981]. Вместе с тем при освещении препаратов ФРЦ постоянным светом переход электрона от D_1 к A_1 происходит не с этой большой константой скорости ~10^{10}—10^{12} с$^{-1}$, а с константой скорости, определяемой частотой попадания возбуждения в ФРЦ и не превышающей, как правило, величину 10^2 с$^{-1}$.

В экспериментальных исследованиях перенос электронов в ФРЦ активируется, как правило, либо короткой вспышкой света, либо продолжительным освещением (стационарный режим). Рассмотрим эти случаи отдельно.

1. При стационарном освещении, как уже указывалось выше,

световая константа скорости характеризует частоту прихода возбуждений в ФРЦ. Естественно, что $k_0 = 0$, если интенсивность света равна нулю. Для световой экспозиции, начинающейся в момент времени t' и заканчивающейся в момент времени t'', величина световой константы скорости может быть задана в виде:

$$k_0 = \begin{cases} 0, & t < t' \\ a, & t' < t < t'' \\ 0, & t > t'' \end{cases}$$

2. При импульсном освещении естественно считать, что величина световой константы скорости k_o может быть задана в виде «дельта» функции $k_o \approx A\delta(t-t_o)$. Ясно, что после освещения ФРЦ короткой вспышкой света (короче $1/k_1$ $1/m_1$) можно перенос электронов рассчитывать исходя из нулевой световой константы скорости, однако с новыми начальными условиями, согласно которым первичный донор окислен, а первичный акцептор восстановлен.

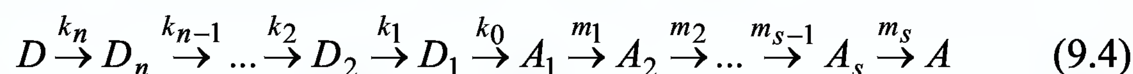
В связи с изложенным отметим, что при задании начальных условий необходимо иметь в виду следующее обстоятельство.

В простейшем случае темновые и световые процессы переноса электронов характеризуются одинаковыми наборами констант скорости, отличаясь лишь световой константой скорости k_o. Поэтому начальные условия должны быть согласованы с системой дифференциальных уравнений в том смысле, что они должны быть уже решениями исходной системы уравнений с параметрами, соответствующими предыдущему режиму освещения. В частности, стационарное световое распределение электронов является начальным для последующей темновой релаксации и обратно, равновесное темновое распределение электронов может являться начальным для последующих фотоиндуцированных изменений редокс-состояний переносчиков электронов.

9.3. Симметрия переноса электронов на донорной и акцепторной сторонах ФРЦ

Как уже отмечалось выше, все реакционные центры построены по единому принципу, который заключается в том, что кинетический и термодинамический профили переноса электронов в них имеют сходный вид (см. рис. 42).

Схема переноса электронов в ФРЦ может быть представлена следующим образом [см. также формулу (9.2)]:



$$D \xrightarrow{k_n} D_n \xrightarrow{k_{n-1}} \ldots \xrightarrow{k_2} D_2 \xrightarrow{k_1} D_1 \xrightarrow{k_0} A_1 \xrightarrow{m_1} A_2 \xrightarrow{m_2} \ldots \xrightarrow{m_{s-1}} A_s \xrightarrow{m_s} A \qquad (9.4)$$

На этой схеме стрелками показано направление переноса электронов между переносчиками. Перенос электронов в прямом направлении эквивалентен переносу «дырки» в обратном направлении (см. гл. 4). Поэтому, чтобы описать перенос «дырки», не-

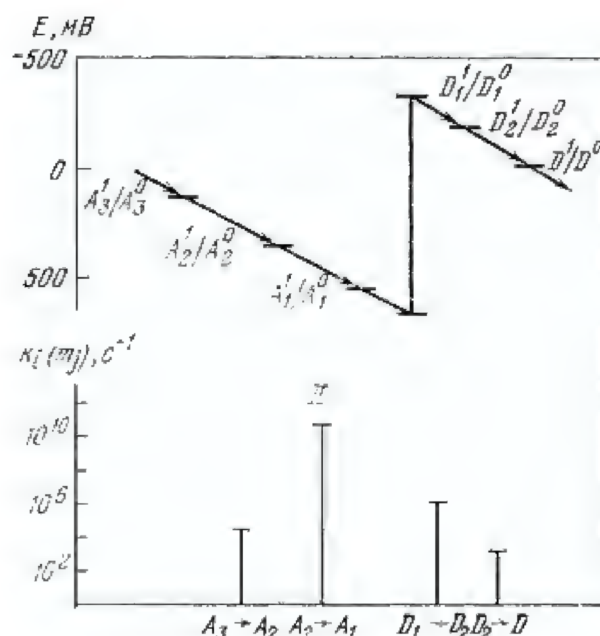
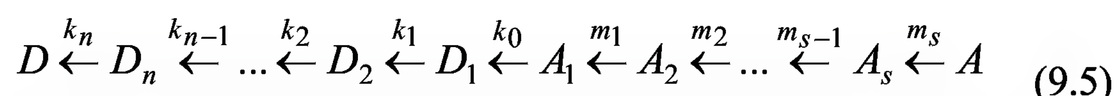


Рис. 43. Схема переноса «дырок» в фотосинтетическом реакционном центре (*I*) и величина логарифма констант скорости соответствующих переходов (*II*)

Объяснения в тексте

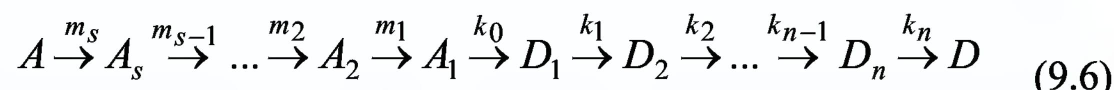
Обходимо все стрелки на схеме (9.4) поменять на противоположные:



$$D \xleftarrow{k_n} D_n \xleftarrow{k_{n-1}} \ldots \xleftarrow{k_2} D_2 \xleftarrow{k_1} D_1 \xleftarrow{k_0} A_1 \xleftarrow{m_1} A_2 \xleftarrow{m_2} \ldots \xleftarrow{m_{s-1}} A_s \xleftarrow{m_s} A \qquad (9.5)$$

При составлении кинетических уравнений, описывающих процесс переноса «дырок» согласно схеме (9.5), необходимо использовать окисленные состояния переносчиков электронов.

Если повернуть схему (9.5) на 180°, то полученная схема будет полностью аналогична схеме (9.4):



$$A \xrightarrow{m_s} A_s \xrightarrow{m_{s-1}} \ldots \xrightarrow{m_2} A_2 \xrightarrow{m_1} A_1 \xrightarrow{k_0} D_1 \xrightarrow{k_1} D_2 \xrightarrow{k_2} \ldots \xrightarrow{k_{n-1}} D_n \xrightarrow{k_n} D \qquad (9.6)$$

Отсюда вытекает, что кинетическое поведение окисленных форм переносчиков A_1,..., A_s соответствует кинетическому поведению восстановленных форм переносчиков D_1, D_2,..., D_n. Естественно, что должны сравниваться схемы с соответствующим числом переносчиков на донорной и акцепторной сторонах ФРЦ.

При замене переноса электронов на перенос «дырок» происходит инверсия рис. 42 на 180° относительно световой константы скорости, а также изменение знака потенциалов полувосстановления переносчиков электронов на противоположный (рис. 43). Существенно, что замена переноса электронов на перенос дырок не изменяет ни кинетический (чем ближе к световой стадии, тем больше величина констант скорости), ни энергетический профиль. Поэтому кинетические закономерности переноса электронов в донорной части ФРЦ справедливы и для переноса «дырок» в акцепторной части ФРЦ и наоборот [Шинкарев, Рубин, 1982].

Такая кинетическая двойственность позволяет при анализе переноса электронов ограничиться рассмотрением либо только донорной, либо только акцепторной сторон ФРЦ. Сходство в

кинетической организации донорной и акцепторной сторон обусловлено, по-видимому, необходимостью быстрого приведения ФРЦ в реакционноспособное состояние, путем быстрого разнесения разноименных зарядов на периферию ФРЦ. Примеры кинетической двойственности как для переходных процессов, так и для стационарного режима будут приведены далее.

9.4. Импульсный режим возбуждения

Рассмотрим исходя из сформулированной кинетической модели транспорт электронов в ФРЦ, индуцированный кратковременной вспышкой света.

Исходно, в темноте ($k_0 = 0$), все переносчики электронов, находящиеся на донорной стороне реакционного центра, восстановлены, а на акцепторной стороне — окислены. Если для краткости через 0 и 1 обозначить окисленное и восстановленное состояния переносчиков электронов, то в темноте реакционный

$$\underbrace{1\ldots1}_{n}\quad\underbrace{0\ldots0}_{s}\ .$$

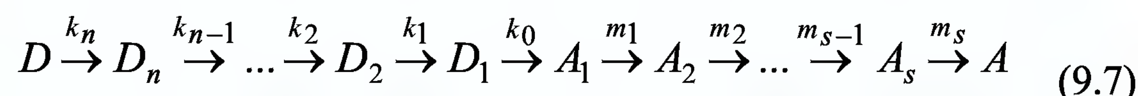
Здесь единицы на первых n местах обозначают восстановленное состояние переносчиков D_1, D_2, ..., D_n, а нули на последних s местах — окисленное состояние переносчиков A_1,..., A_s.

Дальнейшее поведение переносчиков электронов во времени зависит от того, каким образом происходит освещение ФРЦ: постоянным светом, вспышкой света или серией последовательных вспышек света. Ниже рассмотрена кинетика редокс-превращений переносчиков электронов под действием вспышки света.

После освещения ФРЦ вспышкой ($\tau_{всп}<1/k_1$, $1/m_1$) лишь один электрон от первичного донора D_1 перейдет к первичному акцептору A_1 и система окажется в неравновесном состоянии, характеризующемся наличием «дырки» в донорной и электрона в

$$\underbrace{1\ldots10}_{n}\quad\underbrace{10\ldots0}_{s}$$

Вслед за этим комплекс реакционного центра будет стремиться к исходному равновесному состоянию согласно схеме ($k_0 = 0$)



$$D \xrightarrow{k_n} D_n \xrightarrow{k_{n-1}} \ldots \xrightarrow{k_2} D_2 \xrightarrow{k_1} D_1 \xrightarrow{k_0} A_1 \xrightarrow{m_1} A_2 \xrightarrow{m_2} \ldots \xrightarrow{m_{s-1}} A_s \xrightarrow{m_s} A \qquad (9.7)$$

Основная наша задача состоит в том, чтобы найти выражение кинетики редокс-превращений отдельных переносчиков электронов после импульсной активации ФРЦ. Из схемы (9.7) следует важное обстоятельство, существенно упрощающее анализ: дальнейшую эволюцию акцепторной и донорной частей ФРЦ можно описывать независимо друг от друга.

Эволюция «дырки» в донорной части ФРЦ описывается последовательностью мономолекулярных переходов между состояниями комплекса

$$(1...10)\xrightarrow{k_1}(1...101)\xrightarrow{k_2}...\xrightarrow{k_{n-1}}(01...1)\xrightarrow{k_n}(11...1) \qquad (9.8)$$

Эволюция электрона в акцепторной части описывается аналогичным образом:

$$(10...0)\xrightarrow{m_1}(010...0)\xrightarrow{m_2}...\xrightarrow{m_{s-1}}(0...01)\xrightarrow{m_s}(00...0) \qquad (9.9)$$

Каждое q-е состояние, кроме последнего, фигурирующее на схемах (9.8) и (9.9), можно отождествить с окисленным (восстановленным) состоянием q-го переносчика электронов на донор-

$$\underbrace{(1...10)}_{n} \leftrightarrow D_1^0, ..., \underbrace{(01...1)}_{n} \leftrightarrow D_n^0$$

$$\underbrace{(10...0)}_{s} \leftrightarrow A_1^1, ..., \underbrace{(0...01)}_{s} \leftrightarrow A_S^1$$

Вследствие этого можно записать систему дифференциальных уравнений, замкнутую относительно вероятностей редокс-состояний отдельных переносчиков (см. гл. *4)*. Существенно, однако, заметить, что в отличие от обычных мономолекулярных реакций в этом случае для описания переноса электронов в донорной части необходимо использовать окисленные состояния переносчиков, а в акцепторной части — восстановленные состояния.

Ввиду того что схема переноса электрона в акцепторной части аналогична схеме переноса «дырки» в донорной части ФРЦ, в дальнейшем мы ограничимся подробным рассмотрением лишь миграции «дырки» на донорной стороне реакционного центра. Для вероятности того, что q-й переносчик электронов на донорной стороне ФРЦ находится в окисленном состоянии, введем обозначение $x_q(t) = P(D_q^0)$. Тогда исходя из схемы (9.8) для вероятностей состояний окисленности переносчиков электронов можно записать систему линейных дифференциальных уравнений:

$$\begin{aligned} dx_1/dt &= -k_1x_1 \\ dx_2/dt &= k_1x_1 - k_2x_2 \\ &. \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \\ dx_n/dt &= k_{n-1}x_{n-1} - k_nx_n \end{aligned} \qquad (9.10)$$

Как следует из полученных общих соотношений, кинетика редокс-превращений переносчиков электронов описывается суммой

Можно считать, что после освещения вспышкой начальные условия для вероятностей состояний окисленности переносчиков электронов, находящихся на донорной стороне ФРЦ, имеют вид $x_1(0) = 1$, $x_i(0) = 0$, $i = 2, 3, ..., n$. Поэтому решение системы диф-

ференциальных уравнений (9.10) может быть записано следующим образом [Бартлетт, 1958]:

$$x_q(t) = k_1 k_2 \cdot \ldots \cdot k_{q-2} k_{q-1} \sum_{i=1}^{q} \frac{e^{-k_i t}}{\omega_q'(-k_i)}, \quad q=2, 3, \ldots, n, \qquad (9.11)$$

В этом выражении $\omega_q(-k_i)$ — значение производной

$$\omega_q'(-k_i) = (k_1 - k_i)(k_2 - k_i) \cdot \ldots \cdot (k_{i-1} - k_i)(k_{i+1} - k_i) \cdot \ldots \cdot (k_q - k_i)$$

Аналогичное общее соотношение справедливо и для переносчи-

$$P(A_1^1) = e^{-m_1 t},$$

$$P(A_j^1) = m_1 m_2 \cdot \ldots \cdot m_{j-1} \sum_{i=1}^{j} \frac{e^{-m_i t}}{\omega_j'(-m_i)}, \quad j=2, 3, \ldots, s, \qquad (9.12)$$

Как следует из полученных общих соотношений, кинетика редокс-превращений переносчиков электронов описывается суммой экспоненциальных членов, показатели которых — константы скорости переноса электронов на соответствующих участках. Однако полученные выражения (9.11) и (9.12), описывающие темновую релаксацию ФРЦ, не учитывают иерархии величин констант скорости, отмеченной в пункте В. С учетом этой иерархии r-й член в сумме (9.11), стоящий перед $e^{-k_r t}$, близок к нулю, если $r < q - 1$, близок к -1, если $r = q - 1$, или к 1, если $r = q$. Отсюда следует, что соотношение (9.11) может быть

$$x_q(t) = P(D_q^0) \approx e^{-k_q t} - e^{-k_{q-1} t}, \qquad q = 2, 3, \ldots, n,$$

$$x_1(t) = P(D_1^0) \approx e^{-k_1 t}. \qquad (9.13)$$

Аналогичные соотношения справедливы и для переносчиков электронов, находящихся на акцепторной стороне реакционного центра:

$$P(A_j^1) \approx e^{-m_j t} - e^{-m_{j-1} t}, \; j = 2, 3, \ldots, s, \; P(A_1^1) \approx e^{-m_1 t}. \qquad (9.14)$$

Таким образом, перенос электронов в реакционном центре осуществляется с явно выраженной стадийностью: сначала имеет место перенос «дырки» за время ~ $1/k_1$ от D_1 к D_2, затем — за время ~ $1/k_2 >> 1/k_1$ — на D_3 и т. д. Аналогичное положение распространяется и на перенос электронов в акцепторной части.

9.5. Циклический поток электронов

До сих пор мы рассматривали нециклический транспорт электронов и не учитывали внутрикомплексного циклического переноса электронов от акцепторов к донорам, который возможен ввиду того, что редокс-потенциалы переносчиков, находящихся на акцепторной стороне реакционного центра, ниже редокс-потенциалов переносчиков донорной стороны (см. рис. 42). Однако при циклическом потоке электронов донорную и акцепторную части уже нельзя рассматривать независимо. Из любого состояния, в котором имеется один электрон в акцепторной части и одна «дырка» в донорной части, ФРЦ может перейти с константой скорости циклического переноса (своей для каждого состояния) в исходное равновесное состояние (1...1 0...0). Вместе с тем согласно выражениям (9.13) и (9.14), время жизни любых неравновесных состояний реакционного центра, отличающихся от (1 ... 1 0... 0), тем больше, чем дальше находятся электрон на акцепторной, а «дырка» на донорной стороне ФРЦ от световой стадии. Это приводит к тому, что циклические переходы нужно учитывать только в случае долгоживущих неравновесных состояний реакционного центра.

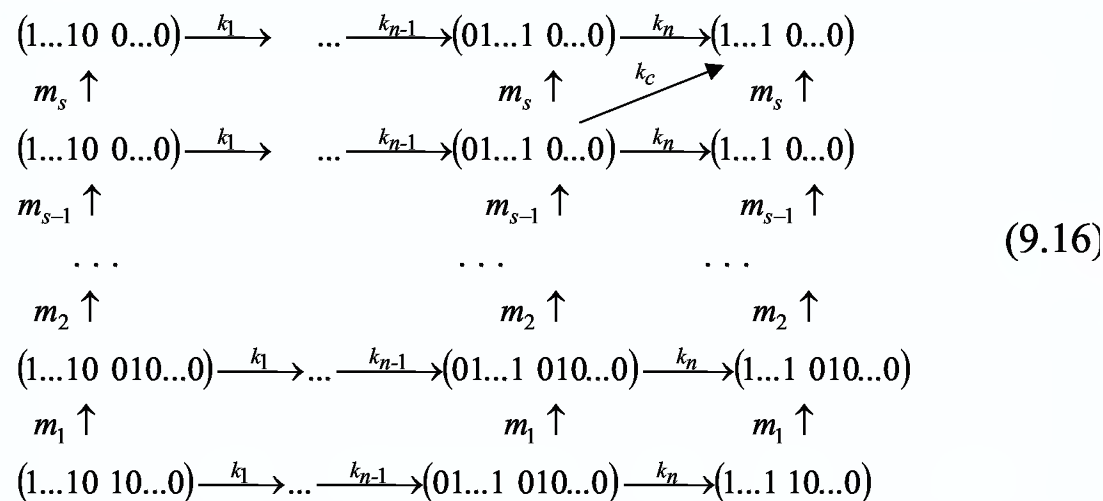
Действительно, предположив независимость переносчиков на донорной и акцепторной сторонах ФРЦ для скорости циклического потока электронов $V_ц$ между A_j и D_i можно записать следующее выражение:

$$V_ц \approx k_{ji} P(D_i^0) P(A_j^1) \approx k_{ji} \left(e^{-k_i t} - e^{-k_{i-1} t}\right)\left(e^{-m_j t} - e^{-m_{j-1} t}\right), \qquad (9.15)$$

где k_{ji}— константа скорости соответствующего циклического перехода. Из этого выражения следует, что циклический поток электронов между переносчиками возможен только в интервалы времени, меньшие, чем $1/(k_i + m_j)$, когда еще сохраняются состояния D_i^0 и A_j^1. Поэтому во всех случаях, когда величина, обратная константе скорости k_{ji} циклического переноса, больше, чем $1/(k_i + m_j)$, этим потоком электронов можно пренебречь. Поскольку обычно величина константы скорости циклического потока не превышает 10^2—10^3 $с^{-1}$, он возможен лишь между A_s и D_n, у которых обмен электронами со средой протекает с псевдомономолекулярными константами скорости, лежащими в пределах 10^{-2}—10^2 $с^{-1}$.

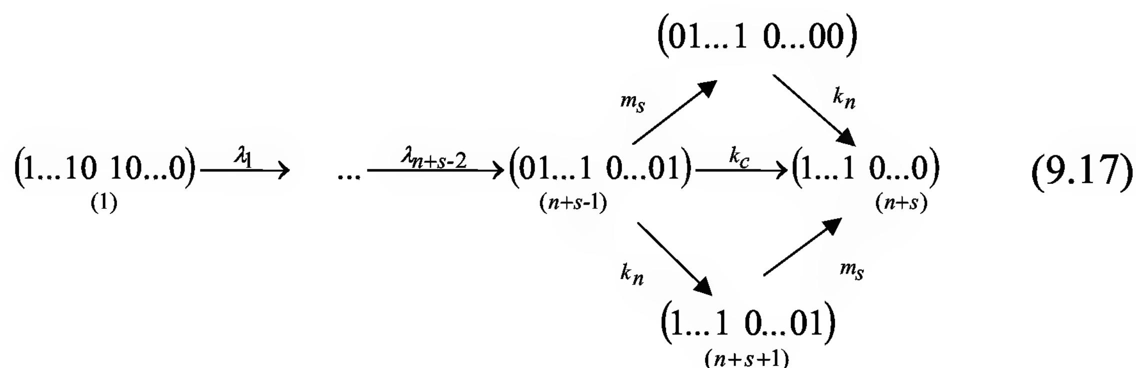
Таким образом, внутрикомплексный циклический транспорт электронов происходит в основном между крайними переносчиками A_s и D_n. Следовательно, приведенное ранее описание индуцированного вспышкой нециклического транспорта электронов в реакционном центре правомерно для всех переносчиков, кроме A_s и D_n и для отрезков времени, меньших, чем время обмена комплекса электронами со средой.

С учетом сказанного переходы состояний комплекса ФРЦ после активации его короткой вспышкой света можно представить схемой, на которой k_c — константа скорости циклического переноса электронов.



Для того чтобы найти связанные с циклическим потоком изменения редокс-состояний комплекса ФРЦ, учтем, что не все состояния, показанные на схеме (9.16), реализуются с достаточно большой вероятностью. Действительно, из начального состояния (1...10 10...0) комплекс может перейти в состояние (1...10 010...0) с константой скорости m_1 или в состояние (1...101 10...0) с константой скорости k_1. Наиболее вероятен переход, характеризующийся большей константой скорости. Попав в следующее состояние, ФРЦ опять перейдет в состояние, в которое ведет реакция с наибольшей константой скорости, и т. д. Необходимо заметить следующее. Если выбор пути по константам скорости внутрикомплексных переходов фактически определяется устройством ФРЦ, то выбор пути на конечном участке зависит от констант скорости обмена электронами между комплексом и средой, т. е. определяется концентрацией экзогенных доноров и акцепторов.

Итак, выберем наиболее вероятный путь, ведущий из исходного неравновесного состояния в конечное равновесное. В силу того что внутрикомплексные переходы осуществляются существенно быстрее, чем обмен электронами комплекса со средой, этот путь обязательно будет проходить через состояние (01... 1



где λ_1, λ_2,..., λ_{n+s-2}— константы скорости, выделяющие его из схемы (9.16). Предполагается, что этот путь — единственный. В дальнейшем для упрощения обозначений мы не будем указывать нижние индексы у констант скорости k_n и m_s, полагая, что $k_n=k$, $m_s=m$.

Система дифференциальных уравнений, описывающая перенос электронов по наиболее вероятному пути, имеет вид

$$
\begin{aligned}
&dp_1/dt = -\lambda_1 p_1, \\
&dp_2/dt = \lambda_1 p_1 - \lambda_2 p_2, \\
&\ldots\ldots\ldots\ldots \\
&dp_{n+s-1}/dt = \lambda_{n+s-2} p_{n+s-2} - (m + k_c + k) p_{n+s-1} \\
&dp_{n+s}/dt = m p_{n+s-1} - k p_{n+s} \\
&dp_{n+s+1}/dt = k p_{n+s-1} - m p_{n+s+1}
\end{aligned}
\tag{9.18}
$$

Начальными условиями для этой системы дифференциальных уравнений являются $p_1(0) = 1$, $p_i(0)=0$, $i\geq 2$. Кроме того, из самого смысла выбора рассматриваемого пути и свойства ФРЦ, указанного в пункте В, вытекает, что $\lambda_1>\lambda_2>. . .> \lambda_{n+s-2}> >(m +k_c + k)$. Это позволяет решение системы уравнений (9.18) записать следующим выражением, аналогичным формуле (9.13):

$$
\begin{aligned}
&p_1 \approx e^{-\lambda_1 t}, \quad p_i \approx e^{-\lambda_i t} - e^{-\lambda_{i-1} t}, \quad i = 2, 3, \ldots, n+s-2, \\
&p_{n+s-1} \approx e^{-(k+k_c+m)t} - e^{-\lambda_{n+s-2} t}.
\end{aligned}
\tag{9.19}
$$

Подставляя найденное значение для p_{n+s-1} в последние два уравнения системы (9.18), находим, что

$$
\begin{aligned}
&p_{n+s}(t) \approx \left(\frac{m}{m+k_c} + \frac{m}{k-\lambda_{n+s-2}} \right) e^{-kt} - \\
&- \left(\frac{m}{m+k_c} \right) e^{-(k+k_c+m)t} - \frac{m}{k-\lambda_{n+s-2}} e^{-\lambda_{n+s-2} t}, \\
&p_{n+s+1} \approx \left(\frac{k}{k+k_c} + \frac{k}{m-\lambda_{n+s-2}} \right) e^{-mt} - \\
&- \left(\frac{k}{k+k_c} \right) e^{-(k+k_c+m)t} - \frac{k}{m-\lambda_{n+s-2}} e^{-\lambda_{n+s-2} t}.
\end{aligned}
\tag{9.20}
$$

От найденных вероятностей состояний ФРЦ необходимо перейти к состояниям составляющих его переносчиков. Из схемы (9.16) очевидно, что переходы по константам скорости m_l, не меняют состояний переносчиков, находящихся на донорной стороне реакционного центра. Аналогичным образом переходы по константам скорости k_r не меняют состояний переносчиков, находящихся на акцепторной стороне. Поэтому, чтобы получить на основе упрощенной схемы (9.17) выражения для вероятности окис-

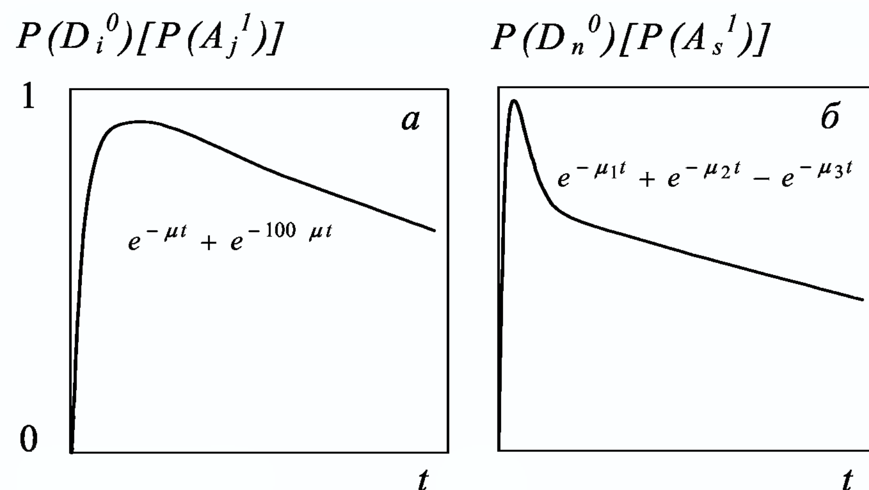


Рис. 44. Кинетика редокс-превращений переносчиков электронов под действием вспышки света

а — для центральных переносчиков D_1 — D_n, A_1 — A_{s-1}; *б* — для крайних переносчиков D_n и A_s, между которыми возможен циклический поток электронов

ленной формы D_n, необходимо суммировать вероятности всех состояний, обозначенных на схеме (9.17) правее константы скорости k_{n-1} и левее константы скорости k_n. В силу выражения (9.19) сумма вероятностей всех состояний, содержащих D_n в окисленной форме (кроме состояния 01... 1 0...0), равна

$$e^{-(k+k_c+m)t} - e^{-k_{n-1}t} \qquad (9.21)$$

Поэтому для вероятности того, что D_n находится в окисленной форме, можно записать

$$P(D_n^0) \approx e^{-(k+k_c+m)t} - e^{-k_{n-1}t} + p_{n+s} \approx$$
$$\approx \frac{k_c}{m+k_c} e^{-(k+k_c+m)t} + \frac{m}{m+k_c} e^{-kt} - e^{-k_{n-1}t} \qquad (9.22)$$

При написании этого приближенного выражения мы учли, что $\lambda_{n+s+2} >> m$, k_0. Аналогично этому для вероятности восстановленной формы A_s справедливо выражение

$$P(A_s^1) \approx \frac{k}{k+k_c} e^{-mt} + \frac{k_c}{k+k_c} e^{-(k+k_c+m)t} + -e^{-m_{s-1}t} \qquad (9.23)$$

Как видно из полученных формул, в процессе темнового восстановления D_n, а также и в процессе темнового окисления A_s имеются два компонента: более быстрый и более медленный. Более быстрый компонент зависит от величины константы скорости циклического переноса электронов, а более медленный — от константы скорости обмена электронами комплекса реакционного центра со средой. Вклад этих компонентов определяется отношением k_c/m — для D_n и k_c/k — для A_s. Поэтому, когда либо k, либо m велики по сравнению с k_c, что соответствует большой концентрации внешних доноров и акцепторов в соответствующей

форме, циклическим потоком электронов можно пренебречь. В этом случае выражения для $P(D_n^0)$ и $P(A_s^1)$ полностью совпадут с формулами (9.13) и (9.14), полученными для нециклического транспорта электронов. Напомним, что кинетика релаксации всех остальных переносчиков электронов ФРЦ описывается также исходя из выражений (9.13) и (9.14).

Таким образом, типичной кинетической кривой переносчиков электронов, отличающихся от D_n и A_s является разность двух экспонент (рис. 44, *А*), а типичной кинетической кривой D_n и A_s — кривая, описываемая соотношениями (9.22) и (9.23) (рис. 44, *Б*).

Заключение

В результате первичного разделения зарядов в ФРЦ осуществляется перенос электрона от D_1 к A_1 после чего происходит перенос этого электрона в акцепторной части и заполнение освободившегося места в донорной части [см. схемы (9.8 и 9.9)]. Процесс переноса электронов в донорной части, приводящий к заполнению свободного места, можно рассматривать как перенос «дырки» в противоположном направлении. Сходство процессов переноса «дырки» в донорной и электрона в акцепторной частях ФРЦ приводят к тому, что эти процессы описываются аналогичными выражениями. Важнейшая особенность процесса темновой релаксации ФРЦ при нециклическом транспорте электронов состоит в том, что миграции «дырки» в донорной и электрона — в акцепторной частях ФРЦ происходят независимо друг от друга. Это позволяет полностью проанализировать кинетику темновой релаксации ФРЦ. Редокс-превращения переносчиков электронов описываются суммой экспоненциальных членов. Существенным является, однако, то, что если в исходных общих формулах (9.11) и (9.12), описывающих изменение редокс-состояний переносчиков, принимались во внимание все предшествующие стадии переноса электронов, то учет иерархии величин констант скорости (см. пункт В) приводит к возможности локального рассмотрения, для которого важны лишь константы скорости, непосредственно примыкающие к этому переносчику. В результате кинетика переноса электрона («дырки») может быть описана достаточно простыми соотношениями (9.13) и (9.14). Из этих формул вытекает, что время жизни переносчиков электронов в неравновесных состояниях после вспышки света тем меньше, чем ближе данный переносчик электронов находится к начальной световой стадии в цепи переноса. Такая функциональная организация ФРЦ позволяет ему, с одной стороны, быстро возвратиться в реакционноспособное состояние после очередного возбуждения, а с другой — предотвратить обратные реакции разделенных зарядов. Важнейшей особенностью этой организации является практическая необратимость стадий переноса электронов, которая обусловлена большой разницей редокс-потенциалов соседних переносчиков электронов (см. рис. 42). В данном случае имеет место

реализация принципа, согласно которому стабилизация энергии первично разделенных зарядов осуществляется за счет потери части энергии кванта. Более детальное обсуждение этого принципа имеется в ряде работ [Литвин, 1975; Борисов, 1976; Rubin, 1978].

Возможно также, что часть энергии первично разделенных зарядов запасается в виде поляризации среды [Prince, Dutton, 1978; Rubin et al., 1980]. Здесь мы ограничились лишь рассмотрением процесса переноса электронов.

Быстрое разнесение разноименных зарядов к краям ФРЦ приводит к тому, что циклический транспорт электронов наиболее вероятен лишь между A_s и D_n. Наличие циклического потока сказывается в появлении быстрого компонента в темновой релаксации D_n и A_s.

Таким образом, функционирование ФРЦ как молекулярной машины, преобразующей случайные потоки электронов и квантов света в направленный поток электронов, обеспечивается соотношением констант скорости, которое задает последовательность и направление переноса электронов.

Глава 10

СТАЦИОНАРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ В ФРЦ

В предыдущей главе была построена кинетическая модель переноса электронов в ФРЦ и проанализирован транспорт электронов, индуцируемый единичной кратковременной вспышкой света. В данной главе, на основе этой модели будут проанализированы редокс-превращения переносчиков электронов, вызванные активацией ФРЦ постоянным светом.

С экспериментальной точки зрения наибольший интерес представляет рассмотрение зависимости восстановленности переносчиков электронов, входящих в состав ФРЦ, от концентрации доноров, акцепторов и от интенсивности действующего света. Кроме того, важной характеристикой является стационарная скорость переноса электронов через ФРЦ.

Основной задачей данной главы является нахождение указанных стационарных характеристик электронного транспорта в ФРЦ исходя из сформулированной в гл. 9 модели.

10.1. Сведение к двум многоэлектронным переносчикам

В общем случае достаточно трудно решить систему дифференциальных уравнений, описывающих поведение переносчиков электронов, взаимодействующих друг с другом согласно схеме

(9.2):

$$D \overset{k_n}{\to} D_n \overset{k_{n-1}}{\to} \ldots \overset{k_1}{\to} D_1 \overset{k_0}{\to} A_1 \overset{m_1}{\to} \ldots \overset{m_{s-1}}{\to} A_s \overset{m_s}{\to} A \qquad (10.1)$$

Однако использование существующей иерархии в величинах констант скорости

$$\begin{aligned} &k_{i-1} \geq \left(10^2 - 10^4\right) k_i, \quad i = 2, 3, \ldots, n, \\ &m_{j-1} \geq \left(10^2 - 10^4\right) m_j, \quad j = 2, 3, \ldots, s \end{aligned} \qquad (10.2)$$

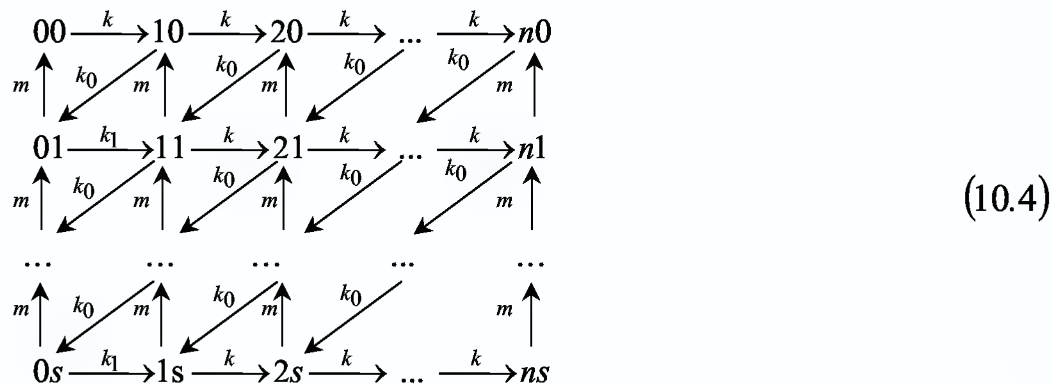
позволяет получить решение в достаточно простой форме, если при анализе переноса электронов ограничиться лишь временами, сравнимыми со временами обмена электронами между ФРЦ и средой. Это связано с тем, что константа скорости k_0, а также константы взаимодействия ФРЦ со средой существенно меньше констант переноса электронов внутри комплекса. Поэтому электрон, попав из среды в ФРЦ, быстро «размазывается» по переносчикам донорной части, прежде чем произойдет изменение числа электронов, связанное либо с дополнительным поступлением электронов от среды, либо с переносом электрона в акцепторную часть ФРЦ по световой константе скорости. То же происходит и при попадании электрона в акцепторную часть ФРЦ. Следовательно, на временах, больших, чем время, необходимое для такого усреднения, состояние ФРЦ можно охарактеризовать числом электронов, находящихся в его донорной и акцепторной частях. Число электронов, находящееся в соответствующих частях ФРЦ, является полной характеристикой стационарного транспорта электронов и позволяет однозначно вычислить восстановленность всех переносчиков ФРЦ ([Венедиктов и др., 1979а, б] см. гл. 8). В этом смысле донорную и акцепторную части ФРЦ можно рассматривать как комплекс двух многоэлектронных переносчиков, взаимодействующих друг с другом со-

$$\overset{k}{\to} R_1 \overset{k_0}{\to} R_2 \overset{m}{\to} \qquad (10.3)$$

На этой схеме и далее для упрощения обозначений не указываются нижние индексы у констант скорости k_n и m_s.

Согласно схеме (10.1) на донорной стороне ФРЦ, обозначаемой как R_1, может находиться 0, 1, 2, ..., n электронов, а на акцепторной стороне, обозначаемой как R_2,— соответственно 0, 1, 2, ..., s электронов. Поэтому введенные многоэлектронные переносчики необходимо считать n и s электронными. Граф переходов для комплекса этих двух переносчиков состоит из $(n+1)$x$(s+1)$ состояний и имеет вид (10.4) [Шинкарев и др., 1980]. Здесь состояние (ij) означает, что на донорной стороне ФРЦ находится i, а на акцепторной—j электронов. Равенство между собой всех констант скорости поступления электронов в комплекс (k) есть следствие ограничений, накладываемых формулой

(10.2) на величины констант скорости [Венедиктов и др., 1979а, б]. То же самое относится и к константам скорости k_0 и m.



(10.4)

Заметим, что граф состояний, который описывает перенос электронов в схеме (10.1) без учета иерархии в величинах констант скорости, содержит 2^{n+s} состояний (не показан). Резкое уменьшение числа рассматриваемых состояний достигнуто за счет того, что граф состояний (10.4) описывает перенос электронов в приближении, учитывающем быстрое усреднение электронов по переносчикам. При построении схемы (10.4) учтено также, что независимо от величин констант скорости внутрикомплексного переноса электронов транспорт электронов невозможен, если переносчик электронов, на который переносится электрон, восстановлен.

В используемом нами описании переноса электронов рассматриваются только наиболее медленные переходы усредненных состояний реакционного центра, связанные с изменением числа электронов в его донорной и акцепторной частях. В силу практической необратимости переноса электронов ([Венедиктов и др., 1979б], см. также гл. 9), у состояния донорной части ФРЦ с i электронами первые i переносчиков восстановлены, а остальные переносчики — окислены. Аналогично у состояния акцепторной части ФРЦ с j электронами последние j переносчиков восстановлены. Иными словами, состоянию реакционного центра с i электронами в донорной и с j электронами в акцепторной частях соответствует следующее распределение электронов между отдель-

$$(\underbrace{0\ldots0\overbrace{1\ldots\ 1}^{i}}_{n}\ \underbrace{0\ldots0\overbrace{1\ldots\ 1}^{j}}_{s})$$

Следовательно, восстановленное (окисленное) состояние переносчика D_l определяется состояниями донорной части реакцион-

$$D_l^1 = \bigcup_{i \geq l} R_1^l \quad (D_l^1 = \bigcup_{i=0}^{l-1} R_1^i) \qquad (10.5)$$

Аналогично, восстановленное (окисленное) состояние переносчика A_r, $r=$ 1, 2, . . . , s есть объединение состояний акцепторной части ФРЦ R_2, содержащих не менее (менее) чем s — $r+$ 1 электронов:

$$A_r^1 = \bigcup_{j=s-r+1}^{s} R_2^j \qquad (A_r^0 = \bigcup_{j=0}^{s-r} R_2^j) \tag{10.6}$$

Обозначим через $P(R_1^i R_2^j)$ вероятность того, что в момент t ФРЦ
находится в состоянии с i электронами в донорной и с j электронами в акцепторной частях. Тогда на временах больших, чем время, необходимое для усреднения электронов по переносчикам ФРЦ, можно записать следующую систему линейных дифференциальных уравнений, описывающую транспорт электронов согласно схеме (10.4) [Шинкарев и др., 1980]:

$$\begin{aligned} &dP(R_1^0 R_2^0)/dt = mP(R_1^0 R_2^1) - kP(R_1^0 R_2^0) \\ &dP(R_1^1 R_2^0)/dt = kP(R_1^0 R_2^0) + mP(R_1^1 R_2^1) - (k + k_0)P(R_1^1 R_2^0) \\ &\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots \\ &dP(R_1^n R_2^s)/dt = kP(R_1^{n-1} R_2^s) - mP(R_1^n R_2^s) \end{aligned} \tag{10.7}$$

Решив эту систему дифференциальных уравнений с подходящими начальными условиями, мы сможем найти вероятности $P(R_1^i R_2^j)$, а следовательно, в силу несовместности состояний $(R_1^i R_2^j)$, и вероятность состояний донорной и акцепторной частей ФРЦ:

$$\begin{aligned} &P(R_1^i) = P(R_1^i R_2^0) + P(R_1^i R_2^1) + \ldots + P(R_1^i R_2^s) \\ &P(R_2^j) = P(R_1^0 R_2^j) + P(R_1^1 R_2^j) + \ldots + P(R_1^n R_2^j). \end{aligned} \tag{10.8}$$

Найдя вероятности R_1 и R_2 с соответствующим числом электронов, мы затем сможем найти уже и восстановленность интересующих нас переносчиков D_1, ..., D_n, A_1, ..., A_s по формулам, вытекающим в силу несовместности различных состояний R_1 и R_2 из соотношений (10.5) — (10.6)

$$\begin{aligned} &P(D_l^1) = P(R_1^l) + P(R_1^{l+1}) + \ldots + P(R_1^n) \\ &P(D_l^0) = 1 - P(D_l^1) = P(R_1^0) + P(R_1^1) + \ldots + P(R_1^{l-1}) \\ &P(A_r^1) = P(R_2^{s-r+1}) + P(R_2^{s-r+2}) + \ldots + P(R_2^s) \\ &P(A_r^0) = P(R_2^0) + \ldots + P(R_2^{s-r}). \end{aligned} \tag{10.9}$$

Поскольку вероятности неотрицательны, то из полученных соотношений для восстановленности переносчиков электронов можно сделать важный вывод, состоящий в том, что восстановленность переносчиков электронов строго определяется последовательностью их взаимодействия [Шинкарев, Рубин, 1983]. В са-

$$P(D_1^0) = P(R_1^0), \quad P(D_1^1) = P(R_1^1) + \ldots + P(R_1^{l-1}),$$

$$P(D_2^0) = P(R_1^0) + P(R_1^1), \quad P(D_2^1) = P(R_1^2) + \ldots + P(R_1^n),$$

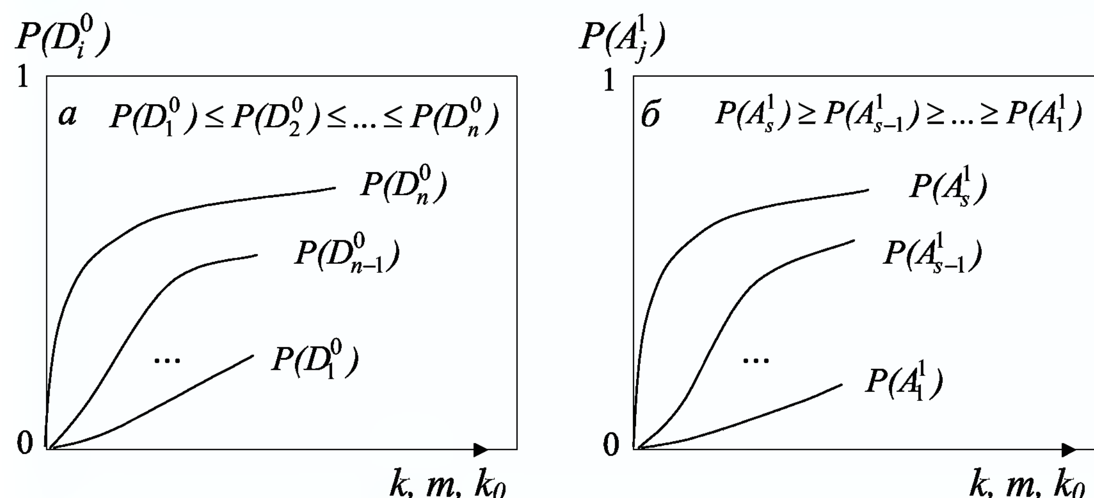


Рис. 45. Схематическое изображение соотношения степени окисленности (а) и восстановленности (б) переносчиков электронов, находящихся соответственно на донорной и акцепторной сторонах фотосинтетического реакционного центра

Верхние индексы 0 и 1 означают окисленное и восстановленное состояние переносчиков электронов

и т. д., откуда следует (рис. 45)

$$\begin{aligned} &P(D_1^0) \le P(D_2^0) \le P(D_3^0) \le \ldots \le P(D_n^0), \\ &P(D_1^1) \ge P(D_2^1) \ge P(D_3^1) \ge \ldots \ge P(D_n^1), \\ &P(A_1^1) \le P(A_2^1) \le P(A_3^1) \le \ldots \le P(A_s^1), \\ &P(A_1^0) \ge P(A_2^0) \ge P(A_3^0) \ge \ldots \ge P(A_s^0). \end{aligned} \qquad (10.10)$$

внутрикомплексного переноса электронов при условии (10.2) восстановленность переносчиков электронов, находящихся на донорной стороне ФРЦ тем больше, чем ближе они расположены к световой стадии. Аналогично этому восстановленность переносчиков, находящихся на акцепторной стороне ФРЦ, тем больше, чем дальше переносчик электронов находится от световой стадии.

Соотношение (10.10) есть следствие того, что на рассматриваемых временах каждое состояние R_1^i (R_2^j) с $i(j)$ электронами в донорной (акцепторной) части отражает несколько различных состояний комплекса, отличающихся друг от друга распределением электронов между переносчиками и находящихся в равновесии друг с другом. Это приводит к тому, что восстановленность переносчиков электронов строго соответствует их редокс-потенциалам. Указанное свойство приводит к тому, что невозможна ситуация когда, скажем, D_l восстановлен, а переносчик электронов с меньшим номером и находящийся ближе к световой стадии окислен (сравним с: [Пытьева и др., 1973; Варфоломеев, Березин,

1977; Березин, Варфоломеев, 1979; с. 244]). В частности, этим объясняется тот факт, что в ФРЦ фототрофных бактерий окисленность пигмента всегда меньше, чем окисленность цитохрома [Пытьева и др., 1973].

10.2. Величина стационарной скорости переноса электронов через комплекс

В стационарных условиях скорость переноса электронов через комплекс может быть определена как скорость переноса электронов через любую стадию на схеме (10.1). После того как исходная схема (10.1) была сведена к схеме (10.4) двух многоэлектронных переносчиков электронов, удобнее всего для определения стационарной скорости переноса электронов через комплекс использовать выражение, связанное с поступлением электронов в комплекс

$$V = kP(D_n^0), \qquad (10.11)$$

и выражение, учитывающее скорость оттока электронов из комплекса

$$V = mP(A_s^1). \qquad (10.12)$$

Поскольку окисленному состоянию D_n соответствует в силу формулы (10.8) сумма всех состояний многоэлектронного переносчика R_1 за исключением состояния с n электронами, мы можем записать для стационарной скорости переноса электронов через комплекс следующее выражение:

$$V = kP(D_n^0) = k\left[\sum_{q=0}^{n-1} P(R_1^q)\right] = k(1 - P(R_1^n)). \qquad (10.13)$$

Аналогично этому можно записать:

$$V = mP(A_s^1) = m\left[\sum_{r=1}^{s1} P(R_2^r)\right] = m(1 - P(R_2^0)). \qquad (10.14)$$

Стационарную скорость переноса электронов можно подсчитать также и исходя из световой стадии:

$$V = k_0 P(D_1^1 A_1^0) = k_0(1 - P(R_1^0 \cup R_2^s)). \qquad (10.15)$$

Как непосредственно следует из написанных выражений (10.13—10.15), скорость переноса электронов через комплекс не может превосходить каждую из констант скорости k, m, k_0 в силу того, что вероятность всегда не превышает единицу. Иными словами, скорость переноса электронов через комплекс не превышает минимальную из констант скорости:

$$V \le \min(k, k_0, m). \qquad (10.16)$$

Как показано в гл.7, эта скорость не может быть также меньше, чем

величина $(1/k+1/k_0+1/m)^{-1}$. Таким образом, для величины стационарной скорости переноса электронов через комплекс справедливы неравенства:

$$V \le \min(k, k_0, m). \qquad (10.17)$$

Из полученных неравенств следует, что скорость переноса электронов через комплекс определяется наименьшей из констант скорости. Причем если какая-либо из констант скорости стремится к нулю, то скорость переноса электронов будет приближаться к этой константе и, следовательно, также будет стремиться к нулю. В частности, скорость переноса электронов через ФРЦ равна нулю в темноте (k_0=0).

10.3. Стационарные вероятности состояний ФРЦ

Для того чтобы найти стационарные вероятности состояний комплекса ФРЦ, необходимо решить соответствующую схеме (10.4) систему алгебраических уравнений, получающуюся из системы (10.7) приравниванием производных нулю:

$$\begin{aligned}
&mP(R_1^0R_2^1) - kP(R_1^0R_2^0) = 0,\\
&kP(R_1^0R_2^0) + mP(R_1^1R_2^1) - (k+k_0)P(R_1^1R_2^0) = 0,\\
&\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\\
&kP(R_1^{n-1}R_2^s) - mP(R_1^nR_2^s) = 0.
\end{aligned} \qquad (10.18)$$

Решив систему уравнений (10.18) и найдя вероятности того, что на донорной и акцепторной сторонах ФРЦ находится соответственно i и j электронов, по формулам (10.8, 10.9) можно найти вероятности отдельных переносчиков.

Затрудняясь дать общее решение системы уравнений (10.18), мы в дальнейшем рассмотрим лишь несколько предельных случаев, когда какая-либо из констант скорости, фигурирующих на схеме (10.4), существенно больше, чем остальные константы скорости. Предварительно рассмотрим некоторые оценки.

Донорная часть ФРЦ

Для вероятностей состояний R_1 исходя из системы уравнений (10.18) (схемы 10.4) можно написать следующие соотношения:

$$\begin{aligned}
&kP(R_1^0) = k_0\left[P(R_1^1R_2^0) + \ldots + P(R_1^1R_2^{s-1})\right],\\
&\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\\
&kP(R_1^{n-1}) = k_0\left[P(R_1^nR_2^0) + \ldots + P(R_1^nR_2^{s-1})\right]
\end{aligned} \qquad (10.19)$$

Учитывая теперь, что

$$P(R_1^iR_2^0) + \ldots + P(R_1^iR_2^{s-1}) \le P(R_1^iR_2^0) + \ldots + P(R_1^iR_2^s) = P(R_1^i), \qquad (10.20)$$

можно записать

$$kP(R_1^0) \le k_0 P(R_1^1),$$

$$. \quad . \qquad (10.21)$$

$$kP(R_1^{n-1}) \le k_0 P(R_1^n).$$

$$k^r P(R_1^{n-r}) \le k_0{}^r P(R_1^n), \qquad (10.22)$$

Поскольку вероятность застать донорную часть в одном из возможных состояний равна единице: $P(R_1^0) + P(R_1^1) + ... + P(R_1^n) = 1$, то для $P(R_1^n)$ можно записать неравенство.

$$P(R_1^n) \le 1 - P(R_1^{n-r}), \qquad (10.23$$

Подставляя последнее неравенство в формулу (10.22), для вероятности застать донорную часть ФРЦ с *(n—r)* электронами получим следующее неравенство, которое и было нашей целью:

$$P(R_1^{n-r}) \le k_0{}^r / \left(k_0{}^r + k^r\right) \qquad (10.24)$$

Из формулы (10.24) следует, что при $k >> k_0$ вероятности состояний донорной части ФРЦ с *n—r* электронами ($r \ge 1$) пренебрежимо малы и их можно не учитывать при рассмотрении переходов комплекса из одного состояния в другое. Оценим погрешность, делаемую нами при рассмотрении переходов только внутри состояний донорной части ФРЦ с *n* электронами. Просуммировав все неравенства (10.21) и заменив сумму вероятностей, стоящую справа, на единицу, мы получим следующее неравенство для суммы вероятностей пренебрегаемых состояний:

$$P(R_1^0) + P(R_1^1) + ... + P(R_1^n) \le k_0/\mathrm{k}. \qquad (10.25)$$

Откуда вероятность застать донорную часть ФРЦ с *n* электронами не меньше, чем $1—k_0/k$. Таким образом, если $k >> k_0$, то ФРЦ с подавляющей вероятностью находится в состояниях, в которых его донорная часть полностью восстановлена.

Выведем теперь неравенства для состояний ФРЦ, выраженные через константы скорости *k* и *m*.

Сравнивая формулы (10.13) и (10.14) и заменяя сумму вероятностей, стоящую в выражении (10.14), на единицу, легко получить следующее неравенство:

$$P(R_1^0) + P(R_1^1) + ... + P(R_1^{n-1}) \le m/\mathrm{k}.$$

Из этого неравенства вытекает, что если $k >> m$, то вероятность рассматриваемых состояний донорной части ФРЦ пренебрежимо мала. Из этого неравенства следует, что вероятность состояния донорной части с *n* электронами не меньше, чем $1—m/k$.

Таким образом, если константа скорости притока электронов в ФРЦ существенно больше всех остальных констант скорости, то он

с подавляющей вероятностью будет находиться в состояниях в которых все переносчики, находящиеся на донорной стороне ФРЦ, восстановлены.

Акцепторная часть реакционного центра

Аналогично тому, как это было сделано выше, легко получить следующие оценки:

$$P(R_2^q) \le k_0{}^q / \left(k_0{}^q + m^q\right) \le k_0{}^q / m^q, \qquad (10.26)$$

$$P(R_2) + P(R_2) + \ldots + P(R_2) \le k_0/m, \qquad (10.27)$$

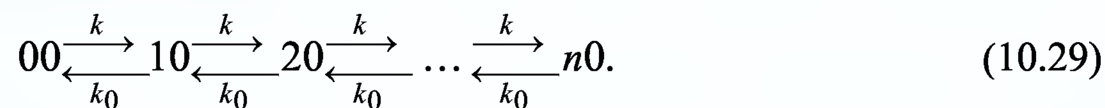
$$P(R_2) + P(R_2) + \ldots + P(R_2) \le k_0/m. \qquad (10.28)$$

Эти неравенства показывают, что если $k_0 << m$ или $k << m$, то при описании стационарного электронного транспорта в комплексе ФРЦ можно ограничиться рассмотрением состояний, принадлежа-щих полностью окисленной акцепторной части. Таким об-разом, из рассмотрения оценок следует, что если константа скорос-ти m оттока электронов из комплекса ФРЦ существенно больше всех остальных констант скорости, то акцепторная часть ФРЦ будет находиться в полностью окисленном состоянии.

Объединяя этот вывод с тем, который был получен выше для донорной части ФРЦ, мы можем сказать, что в зависимости от соот-ношений констант скорости k и m, определяющих обмен электро-нами ФРЦ со средой, в основном реализуются либо состояния верхней строчки, либо состояния правого столбца на схеме (10.4).

Предельные случаи

1. Рассмотрим сначала случай, когда величина константы скорости оттока электронов из комплекса существенно больше всех остальных констант скорости ($m >> k$, k_0). В этом случае акцепторная часть ФРЦ с подавляющей вероятностью находится в окисленном состоянии и все возможные переходы ФРЦ связаны с переходом его донорной части из менее восстановленного в более восстановленное состояние. Таким образом, схема переходов донорной части ФРЦ может быть записана в следующем приближенном виде:



$$00 \underset{k_0}{\overset{k}{\rightleftarrows}} 10 \underset{k_0}{\overset{k}{\rightleftarrows}} 20 \underset{k_0}{\overset{k}{\rightleftarrows}} \ldots \underset{k_0}{\overset{k}{\rightleftarrows}} n0. \qquad (10.29)$$

Применяя принцип детального равновесия к данной схеме (см. гл. 6) для вероятности того, что имеет r электронов, имеем следующее выражение:

$$P(R_1^r) = \rho^r \Big/ \sum_{q=0}^{n} \rho^q, \quad \rho = k/k_0, \quad r = 0, 1, 2, \ldots, n. \qquad (10.30)$$

Вероятность $P(D_i^1)$ того, что i-й переносчик электронов на донорной стороне находится в восстановленном состоянии согласно (10.9), складывается из вероятностей того, что на донорной стороне ФРЦ находится не менее чем i электронов:

$$P(D_i^1) = \sum_{r \geq i} P(R_1^r) \tag{10.31}$$

Поэтому восстановленность i-го переносчика на донорной стороне ФРЦ имеет вид:

$$P(D_i^1) = (\rho^i + \rho^{i+1} + \ldots + \rho^n)(1 + \rho + \rho^2 + \ldots + \rho^n) \tag{10.32}$$

Откуда имеем

$$P(D_i^0) = 1 - P(D_i^1) = (1 + \rho + \ldots + \rho^{i-1})(1 + \rho + \rho^2 + \ldots + \rho^n) \tag{10.33}$$

Полученные соотношения существенно упрощаются в зависимости от того $k > k_0$ или $k < k_0$. Рассмотрим случай, когда световая константа скорости меньше константы скорости переноса электронов в комплекс $k > k_0$ ($\rho<1$). В этом случае в основном реализуются состояния правой части графа (10.29), а соотношение (10.33) для окисленной формы D_i принимает следующий вид:

$$P(D_i^0) \approx \frac{1}{\rho^{n-i+1}} = \left(\frac{k_0}{k}\right)^{n-i+1}, \tag{10.34}$$

т. е. стационарная зависимость окисленной формы D_i от световой константы скорости k_0 (интенсивности света) носит S-образный характер ($i<n$), причем показатель степени тем больше, чем ближе переносчик электронов находится к световой стадии. Существенным является то, что в формуле (10.34) фигурирует n — общее число переносчиков, находящихся на донорной стороне ФРЦ. В случае когда $k_0>k$, соотношение (10.32) для восстановленной формы переносчика D_i принимает следующий простой вид:

$$P(D_i^1) \approx \rho^i = \left(\frac{k}{k_0}\right)^i. \tag{10.35}$$

Таким образом, по зависимости окисленной и восстановленной формы D_i-го переносчика электронов соответственно от световой константы скорости и от константы скорости притока электронов в комплекс можно определить число и порядок расположения переносчиков электронов, находящихся на донорной стороне ФРЦ.

2. Рассмотрим теперь случай, когда величина константы скорости k поступления электронов в комплекс ФРЦ существенно больше всех остальных констант скорости ($k>m$, k_0). В этом случае, комплекс с подавляющей вероятностью будет находиться в состояниях, отвечающих переходам только акцепторной части

ФРЦ, т. е. в состояниях, принадлежащих правому столбцу на схеме (10.4). Для удобства этот столбец изображен в виде строки

$$n0 \underset{m}{\overset{k_0}{\rightleftarrows}} n1 \underset{m}{\overset{k_0}{\rightleftarrows}} n2 \underset{m}{\overset{k_0}{\rightleftarrows}} \ldots \underset{m}{\overset{k_0}{\rightleftarrows}} ns-1 \underset{m}{\overset{k_0}{\rightleftarrows}} ns. \tag{10.36}$$

Переносчики донорной части реакционного центра находятся в полностью восстановленном состоянии и их переходами в окисленное состояние можно пренебречь.

Применяя принцип детального равновесия к схеме (10.36), получим

$$P(R_2^i) = \frac{\delta^i}{\theta}, \text{ где } \delta = \frac{k_0}{m}, \quad \theta = 1 + \delta + \ldots + \delta^s. \tag{10.37}$$

Согласно формулам (10.9) и (10.37) для вероятности того, что A_r находится в восстановленной форме, имеем

$$P(A_r^1) = P(R_2^s) + P(R_2^{s-1}) + \ldots + P(R_2^{s-r+1}) = \\ = \frac{\delta^s + \delta^{s-1} + \ldots + \delta^{s-(r-1)}}{\theta}. \tag{10.38}$$

Откуда вероятность того, что A_r находится в окисленной форме, равна

$$P(A_r^0) = 1 - P(A_r^1) = \left(1 + \delta + \delta^2 + \ldots + \delta^{s-r}\right)/\theta. \tag{10.39}$$

В зависимости от соотношения между константами k_0 и m ФРЦ будет в основном находиться в состояниях левой части графа (10.36) при $k_0 < m$ и в состояниях правой части графа (10.36) при $k_0 > m$. Пусть сначала $k_0 > m$. Тогда из формулы (10.39) вытекает, что зависимость окисленной формы переносчика A_r от величины константы скорости m оттока электронов из ФРЦ имеет S-образный характер,

$$P(A_r^0) \approx \delta^{-r} = (m/k_0)^r. \tag{10.40}$$

Это позволяет по величине показателя этой зависимости определить последовательность и положение переносчиков электронов, находящихся на акцепторной стороне ФРЦ. В случае, когда $k_0 < m$, из формулы (10.38) вытекает, что зависимость вероятности того, что A_r находится в восстановленной форме, от величины световой константы скорости k_0 также имеет S-образный характер:

$$P(A_r^1) \approx \delta^{s-r+1} = (k_0/m)^{s-r+1}. \tag{10.41}$$

Определив из зависимости (10.40) величину r, а исходя из зависимости (10.41) — величину s-r+1, мы тем самым в принципе имеем возможность определить не только последовательность расположения переносчиков, т. е. номер переносчика A_r, но и общее число переносчиков, находящееся в акцепторной части ФРЦ.

3. Рассмотрим, наконец, случай, когда световая константа скорости существенно больше констант скорости обмена электронами комплекса со средой. Поскольку световая константа скорости больше константы скорости поступления электронов ФРЦ, приходящие электроны быстро переходят в акцепторную часть комплекса. Лишь после того, как будет заполнена вся акцепторная часть и станет невозможным перенос электронов по световой стадии, начнется восстановление переносчиков электронов, находящихся на донорной стороне ФРЦ. Вследствие сказанного, исходный граф состояний (10.4) может быть сведен к следующему графу:

$$00 \underset{m}{\overset{k}{\rightleftarrows}} 01 \underset{m}{\overset{k}{\rightleftarrows}} 02 \underset{m}{\overset{k}{\rightleftarrows}} \ldots \underset{m}{\overset{k}{\rightleftarrows}} 0s \underset{m}{\overset{k}{\rightleftarrows}} 1s \underset{m}{\overset{k}{\rightleftarrows}} 2s \underset{m}{\overset{k}{\rightleftarrows}} \ldots \underset{m}{\overset{k}{\rightleftarrows}} ns. \qquad (10.42)$$

Применяя к рассмотренному графу принцип детального равновесия для вероятностей рассматриваемых состояний, мы можем написать:

$$P(R_1^i) = \frac{\sigma^{s+i}}{\chi},\ i > 1;\ P(R_1^0) = \frac{1+\sigma+\sigma^2+\ldots+\sigma^s}{\chi}, \qquad (10.43)$$

$$P(R_2^j) = \frac{\sigma^j}{\chi},\ j < s;\ P(R_2^s) = \left(\sigma^s + \sigma^{s+1} + \ldots + \sigma^{s+n}\right)/\chi. \qquad (10.44)$$

В этих формулах $\sigma = k/m$, $\chi = 1+\sigma+\ldots+\sigma^{n+s}$. Из формул (10.43) и (10.44) найдем восстановленность переносчиков электронов, находящихся на донорной и акцепторной сторонах реакционного центра:

$$P(D_l^1) = P(R_1^l) + P(R_1^{l+1}) + \ldots + P(R_1^n) =$$

$$= \frac{\sigma^{s+l}\left(1+\sigma+\sigma^2+\ldots+\sigma^{n-l}\right)}{\chi}, \qquad (10.45)$$

$$P(A_r^1) = P(R_2^{s-r+1}) + P(R_2^{s-r+2}) + \ldots + P(R_2^{s+n}) =$$

$$= \frac{\sigma^{s-r+1} + \sigma^{s-r+2} + \ldots + \sigma^{s+n}}{\chi}. \qquad (10.46)$$

Полученные выражения существенно упрощаются, когда либо $k>m$, либо $m>k$. Из формул (10.45) и (10.46) имеем следующие

$$\left.\begin{aligned} P(D_l^0) &= 1 - P(D_l^1) == \frac{1+\sigma+\sigma^2+\ldots+\sigma^{l+s-1}}{\chi} \approx \left(\frac{m}{k}\right)^{n-l+1} \\ P(A_r^0) &= 1 - P(A_r^1) == \frac{1+\sigma+\sigma^2+\ldots+\sigma^{s-r}}{\chi} \approx \left(\frac{m}{k}\right)^{n+r} \end{aligned}\right\} \text{Если } k>m \qquad (10.47)$$

$$\left.\begin{aligned} P(D_l^1) &= \sigma^{s+l} \approx \left(\frac{k}{m}\right)^{s+l} \\ P(A_r^1) &== \sigma^{s-r+1} \approx \left(\frac{k}{m}\right)^{s-r+1} \end{aligned}\right\} \text{Если } m>k \qquad (10.48)$$

Из полученных формул можно сделать вывод, что в рассматриваемых условиях окисленность и восстановленность переносчиков электронов S-образно зависят от величины константы скорости оттока электронов из комплекса (10.47) и от величины константы скорости прихода электронов в комплекс (10.48). Определив показатель степени рассматриваемых зависимостей, установить и последовательность расположения переносчиков электронов в ФРЦ.

Сопоставление с экспериментом

Сравним полученные выше выводы с экспериментальными результатами, полученными в нашей лаборатории. Наиболее изученными являются переносчики, находящиеся в ЦЭТ на донорной стороне ФРЦ пурпурных бактерий. Поэтому ниже рассмотрены данные, относящиеся лишь к фотохимически активному пигменту и цитохромам этих микроорганизмов.

В предложенной модели стационарные характеристики нециклического транспорта электронов в ФРЦ определяются лишь световой константой скорости и константами скорости обмена электронами ФРЦ со средой. Причем согласно формуле (10.10) стационарная окисленность переносчиков тем больше, чем дальше этот переносчик находится от световой стадии, независимо от величин указанных констант скорости. В частности, стационарная окисленность пигмента ФРЦ (D_1) достигается при более высоких интенсивностях света, чем цитохрома (D_2). Рассмотрим в отдельности данные, относящиеся к пигменту и цитохрому.

Световые кривые пигмента. Исходя из анализа, проведенного выше, показатель степени в S-образной зависимости окисленности переносчиков электронов от интенсивности света (световая кривая) тем больше, чем ближе переносчики электронов находятся к световой стадии. Для пигмента, т. е. для D_1 должен наблюдаться наибольший порядок степенной зависимости окисленности переносчика от интенсивности света (10.33):

$$P(D_1^1) \cong \frac{(k_0/k)^n}{1 + k_0/k + \ldots + (k_0/k)^n} \approx (k_0/k)^n \qquad (10.49)$$

донорной стороне ФРЦ. Поэтому если при условии $m \gg k > k_0$ не наблюдается S-образной световой кривой пигмента, то это свидетельствует о том, что на донорной стороне отсутствует вторичный донор. Такая ситуация имеет место, например, в хроматофорах Rs. rubrum, в процессе выделения которых цитохром, являющийся вторичным донором, вымывается [Chamorovsky et al., 1976]. Вместе с тем в препаратах хроматофоров серных бактерий E. Shaposhnikovii, в которых цитохромы достаточно прочно связаны с ФРЦ, наблюдается S-образная зависимость световой кривой пигмента [Пытьева и др., 1973] (рис. 46).

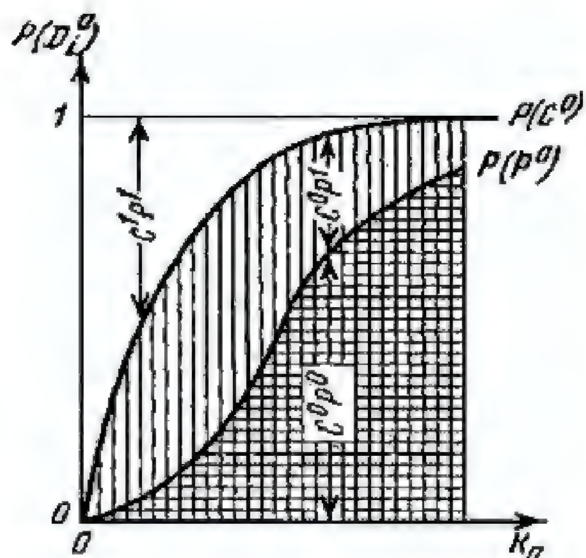


Рис. 46. Соотношение между состояниями донорной части фотосинтетического реакционного центра пурпурных бактерий, содержащего пигмент *P* и цитохром *C*, как функция интенсивности света

Состояние реакционного центра C^1P^0— быстро релаксирующее и его вероятность мала. Поэтому окисленная форма пигмента представлена лишь состоянием C^0P^0

Световые кривые цитохрома. Для вторичного донора, каковым является цитохром, соотношение (10.33) принимает следующий вид:

$$P(D_2^0) \cong \frac{(k_0/k)^{n-1}(1+k_0/k)}{1+k_0/k+...+(k_0/k)^n}. \qquad (10.50)$$

собных быстро восстанавливать цитохром (n=2), то световая кривая цитохрома не имеет *S*-образного характера. Это наблюдается, например, в хроматофорах серной бактерии E. shaposhnikovii (рис. 47, *б*). Существенно, однако, заметить, что в целых клетках этих бактерий отмечена *S*-образная зависимость световой кривой [Пытьева и др., 1973, 1974; Пытьева, Рубин, 1973; Чаморовский и др., 1976; Рубин и др., 1977] (рис. 47, *а*), что свидетельствует о наличии переносчиков электронов, способных быстро восстанавливать цитохром. Этот факт уже обсуждался в работе Пытьевой и Рубина [1973], в которой для объяснения *S*-образной световой кривой цитохрома было предположено существование переносчика Q_X на донорной стороне ФРЦ. Показатель степенной зависимости (10.50), определенный из разложения световой кривой цитохрома в двойных логарифмических координатах, равен 2. Следовательно, количество неидентифицированного переносчика Q_X составляет не более одной молекулы на ФРЦ. Заметим, что поскольку перенос электронов в работе Пытьевой и Рубина [1973] описывался с помощью «бимолекулярных» уравнений, применимых к описанию взаимодействия подвижных переносчиков, то количество молекул Q_X, оцененное в этой работе, оказалось существенно выше.

Согласно формулам (10.49—10.60) стационарная окисленность переносчиков электронов в рассматриваемых условиях определяется отношением величин констант скорости k_0/k. Поэтому

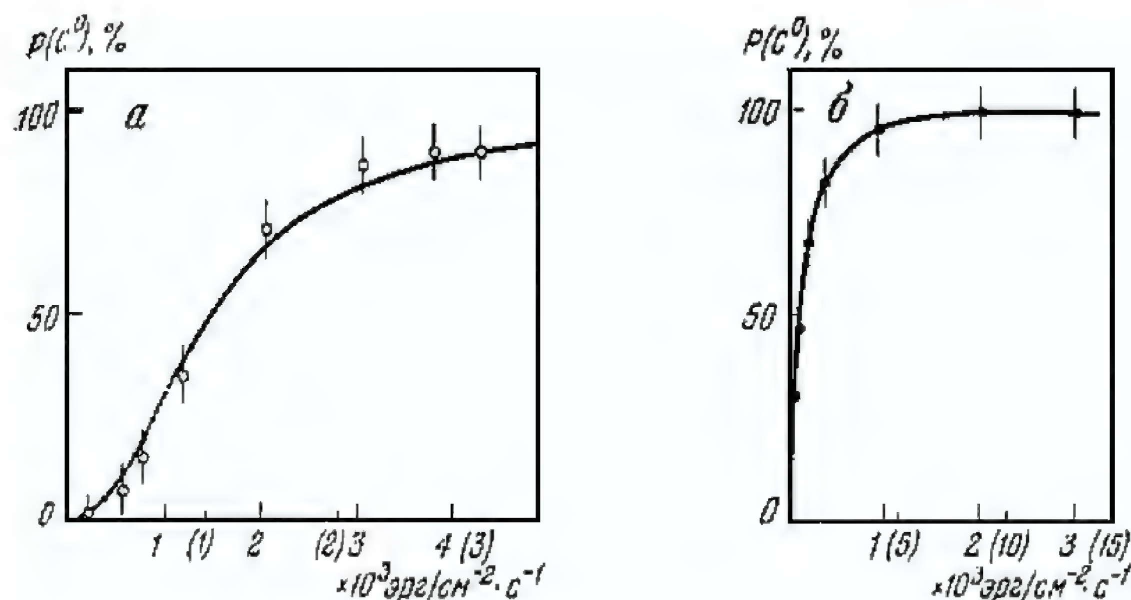


Рис. 47. Зависимость степени окисления высокопотенциального цитохрома от интенсивности света в целых клетках (*а*) и хроматофорах (*б*) серной бактерии Ectothiorhodospira shaposhnikovii [Пытьева и др., 1974]

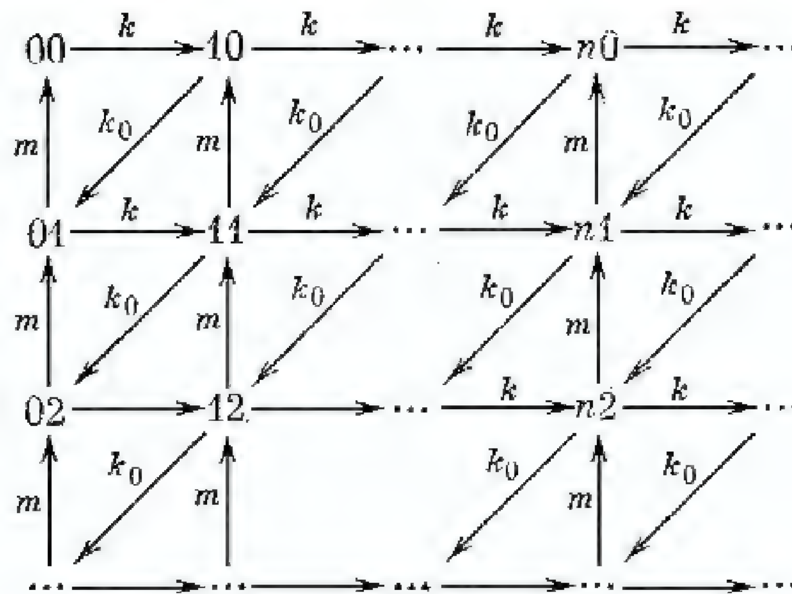
Через экспериментальные точки проведены теоретические кривые, описываемые уравнением (10.50) для n=3 *(а)*: $P(C^0)=P(D_2^0) = \rho_1^2/(1+\rho_1^2)$, $\rho_1 = k_0/k$ и для n=2 *(б)*: $P(C^0)=P(D_2^0)=(\rho_1+\rho_1^2)/(1+\rho_1+\rho_1^2)$. В скобках по оси абсцисс указаны соответствующие значения величины $\rho_1= k_0/k$

изменение константы скорости k, пропорциональной концентрации экзогенного донора D, при неизменной интенсивности света сводится к изменению масштаба световых кривых по оси абсцисс. Следовательно, при увеличении константы скорости k происходит смещение световых кривых в область более высоких интенсивностей действующего света [Пытьева и др., 1973].

10.4. Точные решения для схем переноса электронов в комплексе двух многоэлектронных переносчиков

Проведенное выше рассмотрение стационарных характеристик переноса электронов ограничивалось в основном либо оценками стационарных вероятностей состояний комплекса ФРЦ, либо их приближенными выражениями, поскольку решение системы алгебраических уравнений (10.18) трудно получить в аналитическом виде. Ниже проанализированы схемы переноса электронов, для которых можно получить точные решения.

Рассмотрим перенос электронов в комплексе двух многоэлектронных переносчиков R_1 и R_2, происходящий согласно схеме (10.3), предполагая, в отличие от ранее рассмотренных случаев, что на каждом из переносчиков может находиться любое число электронов. Иными словами, вместо исходной конечной схемы переходов ФРЦ между различными состояниями (10.4) мы имеем схему с бесконечным числом состояний.



(10.51)

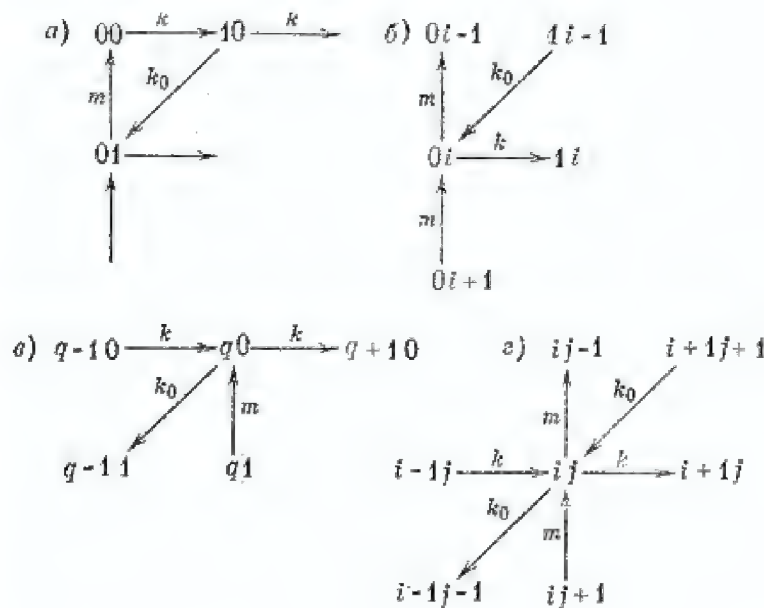
Будем искать решение системы алгебраических уравнений, соответствующих схеме (10.51) [см. систему уравнений (10.18) для конечного числа состояний многоэлектронных переносчиков] в виде

$$P(R_1^i, R_2^j) = Ax^i y^j, \qquad (10.52)$$

где *A, x, y* — неизвестные пока параметры. Подставляя это выражение в систему уравнений, соответствующую схеме (10.51), можно убедиться, что она имеет решение искомого вида, если

$$x = k/k_0, \quad y = k/m. \qquad (10.53)$$

Действительно, проверим, что существует решение вида (10.52) для «узлов» на схеме (10.51) вида



(10.54)

Условие стационарности для узла *а*) на схеме (10.54) имеет вид $Ax^0y^1 \cdot m = A\, x^0y^0 \cdot k$. Откуда $y=k/m$. Для узла *б* на схеме (10.54) условие стационарности можно записать в виде $Ax^1y^{i-1} \cdot k_0 + Ax^0y^{i+1} \cdot m = Ax^0y^i \cdot m + + Ax^0y^i \cdot k$. Откуда, сокращая на Ay^{i-1} и подставляя величину $y=k/m$, найдем, что $x=k/k_0$.

Аналогичным образом можно убедиться, что для узлов *в* и *г* выражение

$$P(R_1^i, R_2^j) = A\left(\frac{k}{k_0}\right)^i \left(\frac{k}{m}\right)^j \tag{10.55}$$

является решением.

Поскольку вероятность застать ФРЦ в каком-либо из его возможных состояний должна быть равна единице, то исходя из выражения (10.55) имеем:

$$\sum_{i,j=0}^{\infty} P(R_1^i, R_2^j) = A \sum_{i,j=0}^{\infty} \left(\frac{k}{k_0}\right)^i \left(\frac{k}{m}\right)^j = 1. \tag{10.56}$$

Этот ряд сходится при $k < k_0$, m, причем $A = \frac{m-k}{m}\frac{k_0-k}{k_0}$. Таким образом, для случая, когда частота поступления электронов от донора в ФРЦ меньше частоты прихода возбуждений (квантов света) и частоты выноса электронов из акцепторной части ФРЦ, система уравнений, описывающая переходы между двумя многоэлектронными переносчиками на схеме (10.51), имеет точное решение вида

$$P(R_1^i, R_2^j) = \frac{m-k}{m}\frac{k_0-k}{k_0}\left(\frac{k}{k_0}\right)^i \left(\frac{k}{m}\right)^j. \tag{10.57}$$

Исходя из полученного выражения нетрудно найти вероятности того, что на донорной и акцепторной сторонах ФРЦ находится соответственно i и j электронов [сравним с выражениями (10.30) и (10.44)]:

$$P(R_1^i) = \sum_{j=0}^{\infty} P(R_1^i, R_2^j) = \frac{k_0-k}{k_0}\left(\frac{k}{k_0}\right)^i, \tag{10.58}$$

$$P(R_2^j) = \sum_{i=0}^{\infty} P(R_1^i, R_2^j) = \frac{m-k}{m}\left(\frac{k}{m}\right)^j. \tag{10.59}$$

Полученные выражения показывают, что при k_0, $m > k$ рассматриваемые вероятности являются экспоненциально убывающими функциями от параметра i и j соответственно. При значительной иерархии в величинах констант скорости переноса электронов заселенности состояний донорной и акцепторной частей ФРЦ более чем с одним электроном пренебрежимо малы. Поэтому рассматриваемая бесконечная схема по существу эквивалентна конечной схеме и выражения (10.58) и (10.59) являются достаточно хорошим приближением для конечной схемы. В полной аналогии с формулами (10.30) — (10.33), например, для вероятности того, что i-й переносчик электронов на донорной стороне ФРЦ находится в окисленном состоянии, имеем следующее выражение:

$$P(D_i^0) = \sum_{r=0}^{i-1} P(R_1^r) = \left(1 + \frac{k}{k_0} + \ldots + \left(\frac{k}{k_0}\right)^{i-1}\right)\frac{k_0 - k}{k_0} = 1 - \left(\frac{k}{k_0}\right)^i. \quad (10.60)$$

Откуда выражение для восстановленной формы переносчика D_i принимает вид [сравним с формулой (10.35)]: $P(D_i^1) = (k/k_0)^i$. Таким образом, при $k<k_0$, m реализуется в основном верхний левый «угол» на схеме (10.51) и соответственно на схеме (10.4). Более того, можно аналогично предыдущему убедиться, что решение вида (10.55) справедливо для системы алгебраических уравнений, соответствующих конечной треугольной схеме переходов между состояниями комплекса вида.

В этом случае

$$A = 1 \Bigg/ \left[\sum_{i=0}^{s}\sum_{j=0}^{s-i}\left(\frac{k}{k_0}\right)^i\left(\frac{k}{m}\right)^j\right].$$

а выражения для $P(R_1^i)$, $P(R_2^j)$ принимают вид

$$P(R_1^i) = A\left(\frac{k}{k_0}\right)^i \sum_{j=0}^{s-i}\left(\frac{k}{m}\right)^j, \quad (10.62)$$

$$P(R_2^j) = A\left(\frac{k}{m}\right)^j \sum_{i=0}^{s-j}\left(\frac{k}{k_0}\right)^i. \quad (10.63)$$

В силу существующей кинетической двойственности в переносе электронов и дырок (см. гл. 9) можно утверждать, что при условии $m<k_0$, k справедливы следующие выражения, описывающие переходы комплекса в нижнем правом «углу» на схеме (10.4):

$$P(R_1^i) = A_1\left(\frac{k}{m}\right)^i \sum_{j=s-i}^{s}\left(\frac{k_0}{m}\right)^j, \quad (10.64)$$

$$P(R_2^j) = A_1\left(\frac{k_0}{m}\right)^j \sum_{i=s-j}^{s}\left(\frac{k}{m}\right)^i. \quad (10.65)$$

Интересно, что полученные формулы свидетельствуют о том, что для случая бесконечной схемы переходов (10.51) реализуется независимость редокс-состояний донорной и акцепторной частей ФРЦ:

$$P(R_1^i R_2^j) = P(R_1^j)P(R_2^j). \quad (10.66)$$

Полученные выражения являются хорошими приближениями для случая достаточно высоких интенсивностей света. Вместе с тем для случая малых интенсивностей света неравенства (10.20),

а соответственно и (10.22) по существу являются равенствами, и, следовательно, в рассматриваемом случае малых интенсивностей света мы также имеем достаточно хорошее приближение для вероятностей застать в донорной части i, а в акцепторной части j электронов:

$$P(R_1^i) = \frac{\left(\frac{k}{k_0}\right)^i}{1 + \frac{k}{k_0} + \ldots + \left(\frac{k}{k_0}\right)^n}, \quad i = 0, 1, \ldots, n. \tag{10.67}$$

$$P(R_2^j) = \frac{\left(\frac{k_0}{m}\right)^j}{1 + \frac{k_0}{m} + \ldots + \left(\frac{k_0}{m}\right)^s}, \quad j = 0, 1, \ldots, s. \tag{10.68}$$

Таким образом, несмотря на то, что в общем случае нет достаточно простой и удобной формы решения задачи описания стационарного транспорта электронов в ФРЦ, тем не менее при наличии определенной иерархии в величинах констант скорости можно получить достаточно простое описание переноса электронов в реакционных центрах.

10.5 Стационарное периодическое освещение

Часто возникает необходимость определения стационарных характеристик переноса электронов при периодическом освещении образца [Кок, 1959; Карапетян и др., 1963; Кононенко и др., 1967]. В цитированных работах объект исследования активировали периодически импульсами света длительностью χ и в темновом интервале между ними θ, через время τ после светового импульса измеряли изменения поглощения или люминесценции.

Как показано ниже, замена истинно непрерывного света модулированным можем приводить к значительным искажениям световой кривой окисленности (восстановленности) переносчиков электронов.

Кинетическая модель

Рассмотрим, для простоты, случай только одного одноэлектронного переносчика, который имеет два состояния — 1 и 2, причем в состояние 2 можно попасть под действием кванта света, после чего он релаксирует к исходному состоянию 1 с константой скорости k:



$$\underset{p}{2} \underset{k_0}{\overset{k}{\rightleftarrows}} \underset{q}{1} \tag{10.69}$$

Дифференциальные уравнения, описывающие переходы в этой

системе имеют следующий вид:

$$dq/dt = kp - k_0 q,$$
$$dp/dt = k_0 q - kp. \qquad (10.70)$$

Здесь q и p — вероятности застать переносчик в первом и втором состояниях. Для определенности далее будем считать, что первое состояние — это восстановленная форма переносчика, а второе состояние — окисленная; k_0 — «световая» константа скорости, пропорциональная интенсивности действующего света. Будем считать, что зависимость k_0 от времени имеет периодический характер (рис. 48) .

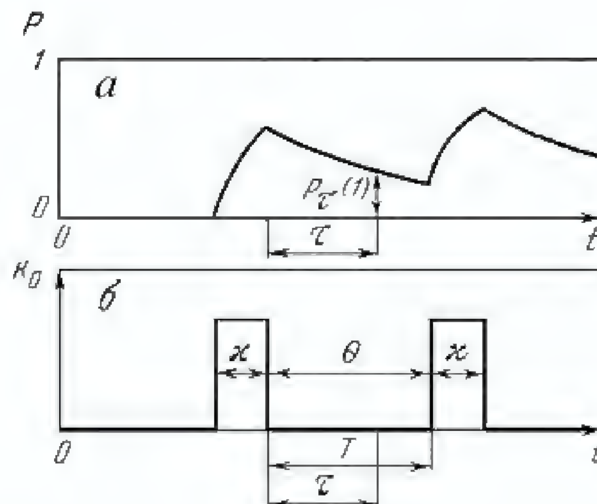


Рис. 48. Схематическое изображение кинетики изменения заселенности второго состояния (а) под действием периодического

Для светового ($k_0 \neq 0$) и темнового ($k_0=0$) промежутка решение 2-го уравнения, записанного с учетом условия нормировки $p+q=1$:

$$dp/dt = k_0 - (k + k_0)p, \qquad (10.71)$$

имеют вид:

$$p(t) = \frac{k}{k + k_0} + \left(p_1 - \frac{k_0}{k + k_0}\right)e^{-(k+k_0)t} \qquad (10.72)$$

и

$$q(t) = p_2 e^{-kt} \qquad (10.73)$$

соответственно.

Здесь $p_1(p_2)$ — начальное условие для восстановленного состояния переносчика, реализующееся в темноте (на свету) непосредственно перед световым (темновым) периодом.

Обозначим через n номер светового импульса. Тогда для любого момента времени t можно записать

$$t = nT + \tau \qquad (10.74)$$

где $T=\theta + \chi$— суммарное время темнового и светового периодов, τ— время после начала темнового периода. Значение вероятности p в момент времени $t=nT+\tau$ будем обозначать через $p_\tau(n)$. Учитывая соотношения (10.72) и (10.73), можно получить рекуррентное соотношение, связывающее вероятности второго (окисленного) состояния в моменты времени, соответствующие окончанию световых периодов и отстоящих друг от друга на время T:

$$p_0(n) = a + bp_0(n-1) \qquad (10.75)$$

где

$$a = \frac{k_0}{k + k_0}\left(1 - e^{-(k+k_0)t}\right), \quad b = e^{-[(k+k_0)\chi + k\theta]}. \qquad (10.76)$$

Итерируя соотношение (10.75), несложно найти

$$p_0(n) = a + bp_0(n-1) = a + b[a + bp_0(n-2)] = ... =$$

$$= a(1 + b + ... + b^{n-1}) + b^n p_0(0) = a\frac{1-b^n}{1-b} + b^n p_0(0). \qquad (10.77)$$

Таким образом, вероятность того, что сразу после окончания n-го светового периода (перед наступлением n+1-го темнового периода) переносчик находится во втором (окисленном) состоянии, равна [$p_0(0)=0$]:

$$p_0(n) = \frac{k_0}{k + k_0}\left(1 - e^{-(k+k_0)\chi}\right)\frac{1 - e^{-n[(k+k_0)\chi + k\theta]}}{1 - e^{-[(k+k_0)\chi + k\theta]}}. \qquad (10.78)$$

Учитывая, что через время τ эта вероятность уменьшится в $e^{-k\tau}$ раз, окончательно получим

$$p_\tau(n) = p_0(n)e^{-k\tau}. \qquad (10.79)$$

Выведенное соотношение описывает изменение со временем вероятности окисленного состояния переносчика.

Рассмотрим стационарный режим ($n\to\infty$). В этом случае вероятность окисленного переносчика через время τ после очередного светового импульса принимает вид

$$p_\tau(\infty) = \frac{k_0 e^{-k\tau}}{k + k_0}\frac{1 - e^{-(k+k_0)\chi}}{1 - e^{-[(k+k_0)\chi + k\theta]}} \equiv \frac{xe^{-k\tau}}{1 + x}\frac{1 - e^{-k\chi(x+1)}}{1 - e^{-k\chi(x+l+1)}}. \qquad (10.80)$$

где $x = k_0/k$, $l=\theta/\chi$. При $\tau=0$ полученное выражение дает значение вероятности окисленного состояния переносчика, отличающееся на коэффициент

$$y = \frac{1 - e^{-(k+k_0)\chi}}{1 - e^{-[(k+k_0)\chi + k\theta]}} \equiv \frac{1 - e^{-k\chi(x+1)}}{1 - e^{-k\chi(x+l+1)}} \qquad (10.81)$$

от того, которое получается при непрерывном освещении ($p= =x/(x+1)$). Существенным является то, что этот коэффициент зависит от интенсивности возбуждающего света, и, следовательно, световые кривые, измеренные с помощью периодического и непрерывного света, должны отличаться друг от друга.

На рис. 49 показана зависимость коэффициента (10.81) от параметра $g=e^{-k\chi}$ *(А),* характеризующего скорость темновой релаксации переносчика и от параметра $c = e^{-k_0\chi}$ *(Б),* связанного с интенсивностью света. Для конкретности положим, что продолжительность темнового периода в 5 раз больше длительности светового ($\theta/\chi=5$)

8 Заказ № 4821

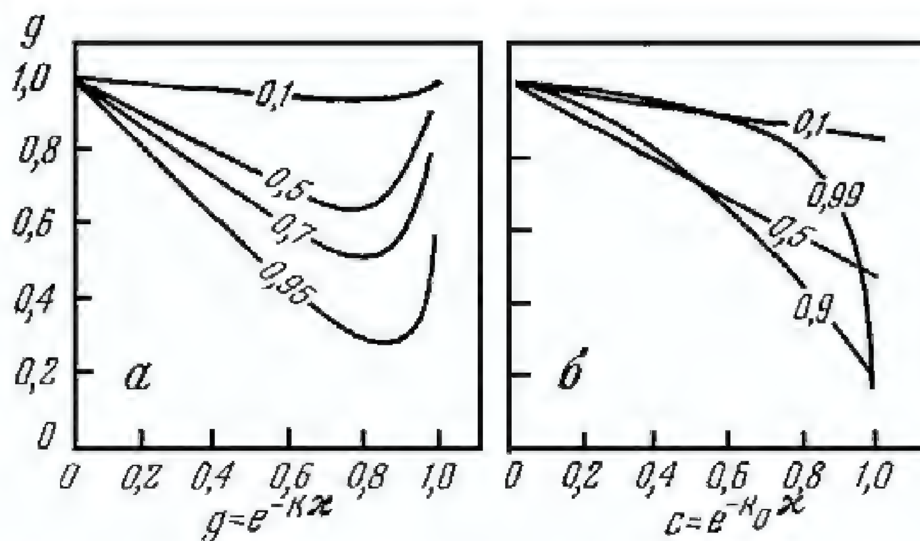


Рис. 49. Зависимость величины поправочного коэффициента (10.81) от времени релаксации второго состояния на схеме (10.69) *(а)* и от интенсивности света (*б*)

Цифры у кривых указывают величину интенсивности света *(а)* и скорости релаксации *(б)*, измеренных соответственно в величинах $e^{-k_0\chi}$ и $e^{-k\chi}$. Кривые рассчитаны для случая $\theta/\chi=5$

[Карапетян и др., 1963; Кононенко и др., 1967]. Из рис. 49 видно, что величина поправочного коэффициента (10.81) стремится к единице при увеличении интенсивности света ($c\to 0$), причем поразному для различных времен темновой релаксации переносчика.

Качественно характер искажений световой кривой можно объяснить исходя из кинетики изменения заселенности окисленного состояния за время светового периода. В течение этого отрезка времени интенсивность возбуждающего света одинакова для периодического и непрерывного режимов освещения. Поэтому отличия, наблюдаемые при различных режимах освещения, могут быть обусловлены только тем, что заселенность окисленного состояния к моменту окончания светового периода не успевает достигнуть стационарного уровня, как это имеет место при освещении непрерывным светом. Рассмотрим более подробно роль различных факторов, влияющих на искажения световых кривых.

Характеристика периодического освещения

Как следует из основной формулы (10.81), величина поправочного коэффициента зависит от соотношения длительностей темнового и светового периодов, $l=\theta/\chi$. Если длительность светового периода существенно больше, чем длительность темнового периода ($\chi>>\theta$), то величина поправочного коэффициента близка к единице и искажения световых кривых не происходят. Качественно это следует из того, что быстрые компоненты за время светового периода успевают достичь стационарного состояния, а медленные компоненты за время темнового периода не успевают от-

релаксировать и, следовательно, через несколько световых периодов обязательно достигнут стационарного состояния. Таким образом, наилучшей периодической модуляцией света с рассматриваемой точки зрения является такая, для которой световой период больше, чем темновой период. Обычно же на практике используют модуляцию, у которой длительность темнового периода больше, чем длительность светового периода. В этом случае l>1 и поправочный коэффициент (10.81) уже не равен единице. Величина коэффициента (10.81) определяется, кроме величины l, еще и соотношением времени светового периода и временем затухания компоненты, т. е. величиной $k\chi$.

Зависимость искажений световой кривой от длительности затухания компонент

Если кинетика темновой релаксации переносчика такова, что как величины $k\chi$, так и величины $k\chi$ (l+1) существенно больше единицы, искажений световых кривых не происходит. Иными словами, переносчик за время светового периода успевает достигнуть стационарного состояния.

Если время темновой релаксации переносчика больше, чем длительность светового периода (1> $k\chi$), и короче, чем длительность темнового периода ($k\theta$>1), то переносчик, который восстанавливается за время темнового периода, может не успеть достичь стационарного состояния за время светового периода. В этом случае искажение формы световой кривой происходит не за счет суммации эффектов от освещения образца импульсами света, а за счет чисто кинетических эффектов, проявляющихся в течение одного светового периода. Поправочный коэффициент в этом случае равен [см. формулу (10.72)]

$$y = 1 - e^{-(k+k_0)\chi}. \tag{10.82}$$

Если время темновой релаксации (восстановления) переносчика больше, чем длительность и светового и темнового периодов, то искажение световой кривой связано в основном с эффектом суммации амплитуд заселенностей окисленного состояния переносчика, индуцированных многими световыми импульсами. В рассматриваемом случае для интенсивностей света, для которых $x<l$, справедлива следующая аппроксимация поправочного коэффициента:

$$y \approx \frac{x+1}{x+l+1}, \tag{10.83}$$

а величину заселенности второго состояния следующим образом:

$$p \approx \frac{x}{x+l+1}, \tag{10.83}$$

Таким образом, полунасыщающая интенсивность света для рассматриваемых компонент увеличивается в l+1 раз; это связано с тем, что

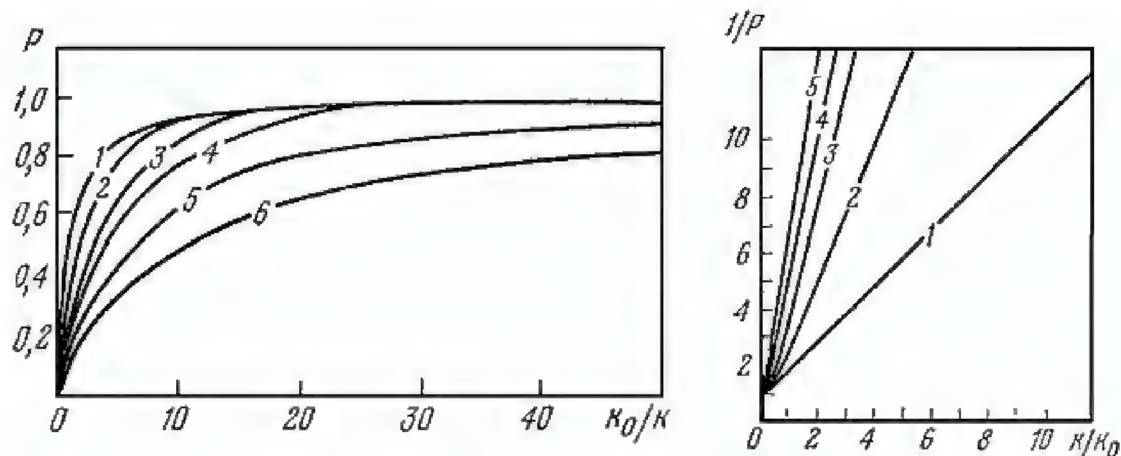


Рис. 50. Искажение световых кривых окисленности переносчика, вызванное периодическим освещением образца

По оси абсцисс отложена величина k_0/k. *1* — световая кривая, соответствующая непрерывному освещению; *2—6* — световые кривые, соответствующие периодическому освещению образца; *2* — $k\chi = 0,5$; 3 — $k\chi = 0,2$; *4* — $k\chi = 0,1$; 5 — $k\chi = 0,01$; 6 — $k\chi = 0,001$. Кривые *2—5* рассчитаны для $\theta/\chi = 5$. Кривая *6* рассчитана для $\theta/\chi = 10$

Рис. 51. Световые кривые окисленности переносчика в двойных обратных координатах

1 — световая кривая, соответствующая непрерывному освещению; *2—5* — кривые, соответствующие непрерывному освещению образца. Значения параметров кривых *1—5* совпадают с таковыми для кривых /—5 на рис. 50

интенсивность действующего света уменьшается фосфороскопом за счет наличия темновых периодов.

На рис. 50 представлены световые кривые заселенности окисленного состояния в зависимости от длительности темновой релаксации переносчика. По оси абсцисс на этом рисунке отложена величина k_0/k, а по оси ординат — относительная величина изменения поглощения. Выбор указанного масштаба по оси абсцисс приводит к тому, что световые кривые всех переносчиков, полученных с помощью непрерывного освещения, совпадают друг с другом (кривая *1*). Все световые кривые, соответствующие периодическому возбуждающему свету, лежат ниже этой кривой. На рис. 51 представлены те же кривые, но в двойных обратных координатах.

Таким образом, анализ изменения поглощения при периодическом режиме освещения показывает, что для получения неискаженных световых кривых необходимо, чтобы длительность светового периода была больше длительности темнового. В противном случае могут наблюдаться следующие эффекты: 1) искажение формы световой кривой; 2) увеличение полунасыщающей интенсивности света; 3) несоответствие времен релаксации различных компонент с их полунасыщающими интенсивностями действующего света; 4) искажение отношения амплитуд компонент с различными временами релаксации и зависимость этого отношения от интенсивности действующего света.

Заключение

Построенная нами модель функционирования ФРЦ описывает следующие важные закономерности.

1. Восстановленность переносчиков электронов, наблюдаемая на временах, сравнимых со временами обмена электронами между ФРЦ и средой, находится в строгом соответствии с редокс-потенциалами переносчиков и числа электронов, находящихся в донорной и акцепторной частях ФРЦ:

$$P(D_1^1) \geq P(D_2^1) \geq \ldots \geq P(D_n^1),$$

$$P(A_1^1) \leq P(A_2^1) \leq \ldots \leq P(A_s^1).$$

Поддержание на высоком уровне восстановленности и окисленности переносчиков электронов, находящихся соответственно на донорной и акцепторной сторонах ФРЦ вблизи световой стадии, имеет большой физиологический смысл, поскольку обеспечивает готовность ФРЦ к аккумуляции очередного кванта света. Кроме того, быстрое восстановление D_1 препятствует обратному переносу электронов от A_1 и тем самым способствует стабилизации разделенных зарядов.

2. В стационарных условиях изменение константы скорости на l-й стадии переноса электронов по-разному изменяет восстановленность переносчиков, находящихся левее и правее этой стадии [схема (9.2)]. Увеличение ее приводит к окислению переносчиков электронов, находящихся до этой стадии, и восстановлению тех, которые находятся после нее. В частности, при увеличении интенсивности света переносчики электронов, находящиеся на акцепторной стороне ФРЦ, восстанавливаются, а переносчики на донорной стороне — окисляются.

3. На временах, сравнимых с временами обмена электронами между ФРЦ и средой, стационарные характеристики нециклического транспорта электронов определяются лишь световой константой скорости и константами скорости обмена электронами ФРЦ со средой.

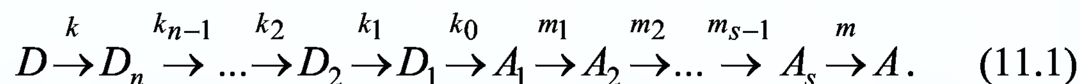
4. В условиях, когда какая-либо одна из трех констант скорости k, k_0, m существенно больше двух остальных констант скорости, возможна S-образная зависимость восстановленности или окисленности переносчиков электронов от этих констант скорости. Начальный участок этой зависимости аппроксимируется степенной функцией, по величине показателя которой можно определить число и последовательность расположения переносчиков электронов в ФРЦ. В частности, возможны S -образные световые кривые переносчиков электронов (зависимость $P(D_i^0)$, $P(A_i^1)$ от интенсивности света) при условии, что их число на донорной (акцепторной) стороне не менее двух.

5. Стационарная скорость переноса электронов через комплекс определяется наименьшей из констант скорости. Этот вывод следует из неравенств (10.17), которым удовлетворяет стационарная скорость переноса электронов через ФРЦ.

Глава 11

ПЕРЕХОДНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРАХ

В гл. 9 нами была предложена обобщенная модель переноса электронов в ФРЦ, согласно которой транспорт электронов описывается как последовательность практически необратимых стадий:



$$D \xrightarrow{k} D_n \xrightarrow{k_{n-1}} \ldots \xrightarrow{k_2} D_2 \xrightarrow{k_1} D_1 \xrightarrow{k_0} A_1 \xrightarrow{m_1} A_2 \xrightarrow{m_2} \ldots \xrightarrow{m_{s-1}} A_s \xrightarrow{m} A. \qquad (11.1)$$

Предполагается, что переносчики электронов D_1, …, D_n и A_1, …, A_s, находящиеся на донорной и акцепторной сторонах ФРЦ соответственно, образуют единый комплекс, а величины констант скорости переноса электронов удовлетворяют соотношениям

$$\begin{aligned} k_{i-1} &\geq \left(10^2 - 10^4\right) k_i, \quad i = 2, 3, \ldots, n\text{-}1, \\ m_{j-1} &\geq \left(10^2 - 10^4\right) m_j, \quad j = 2, 3, \ldots, s\text{-}1. \end{aligned} \qquad (11.2)$$

Исходя из этой модели был рассмотрен транспорт электронов, индуцированный кратковременной вспышкой света (гл. 9), а также проанализированы стационарные характеристики переноса электронов в ФРЦ (гл. 10).

Основной задачей настоящей главы является анализ переходных процессов в ФРЦ, индуцируемых включением и выключением действующего (постоянного) света.

11.1. Усреднение электронов по переносчикам

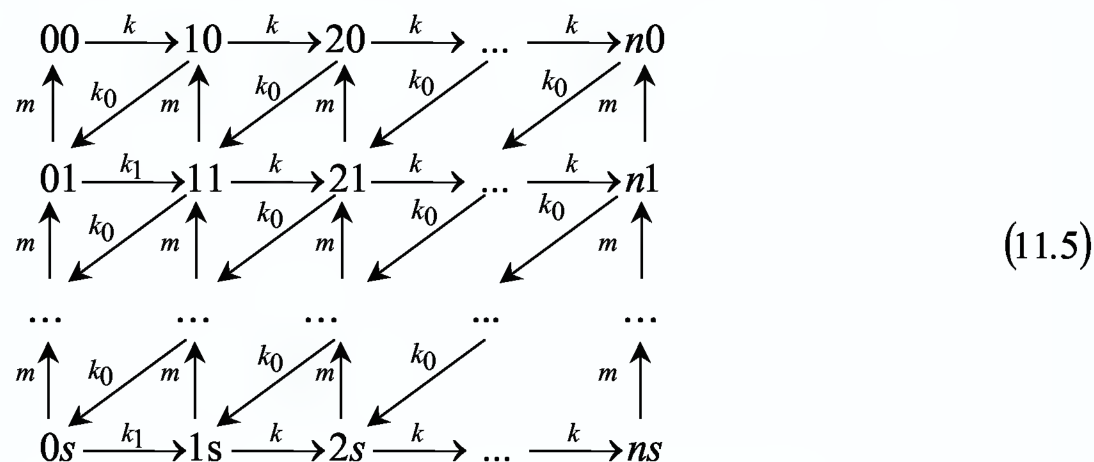
Ранее, в гл. 8 и 10, было показано, что если при рассмотрении транспорта электронов в ФРЦ ограничиться временами, большими, чем время обмена ФРЦ электронами со средой, то состояние ФРЦ можно полностью охарактеризовать числом электронов, находящихся в его донорной и акцепторной частях. Суть применяемого приближения состоит в том, что на рассматриваемых временах уже «отрелаксировали» все состояния, в которых возможен внутрикомплексный перенос электронов по «быстрым» константам скорости k_1,… , k_{n-1}, m_1, …, m_{s-1} и кинетическое поведение ФРЦ может быть описано исходя из медленно релаксирующих состояний в которых переходы осуществляются с «медленными» константами скорости k, k_0, m. В силу практической необратимости переноса электронов в ФРЦ, для вероятности того, что переносчик D_l находится в окисленной форме, имеем [см, формулу (10.9)]

$$P(D_l^0) = P\left(\bigcup_{i=0}^{l-1} R_1^i\right) = P(R_1^0) + P(R_1^1) + ... + P(R_1^{l-1}). \qquad (11.3)$$

Поскольку вероятности всегда неотрицательные, то несложно сделать вывод о том, что степень окисленности переносчиков электронов определяется последовательностью их расположения в ФРЦ: она тем больше, чем ниже их среднеточечный редокс-потенциал (см. гл. 10):

$$P(D_1^0) \le P(D_2^0) \le ... \le P(D_n^0),\ P(A_1^0) \ge P(A_2^0) \ge ... \ge P(A_s^0). \qquad (11.4)$$

Причем это свойство справедливо не только для стационарного состояния, но и для рассматриваемых ниже переходных процессов. Существенно, однако, отметить, что это общее свойство электрон-транспортной цепи справедливо лишь для моментов времени, больших, чем время, необходимое для усреднения электронов по переносчикам донорной и акцепторной сторон реакционного центра. Для рассматриваемых отрезков времени граф переходов между «медленно» релаксирующими состояниями комплекса переносчиков ФРЦ, соответствующий схеме (11.1),



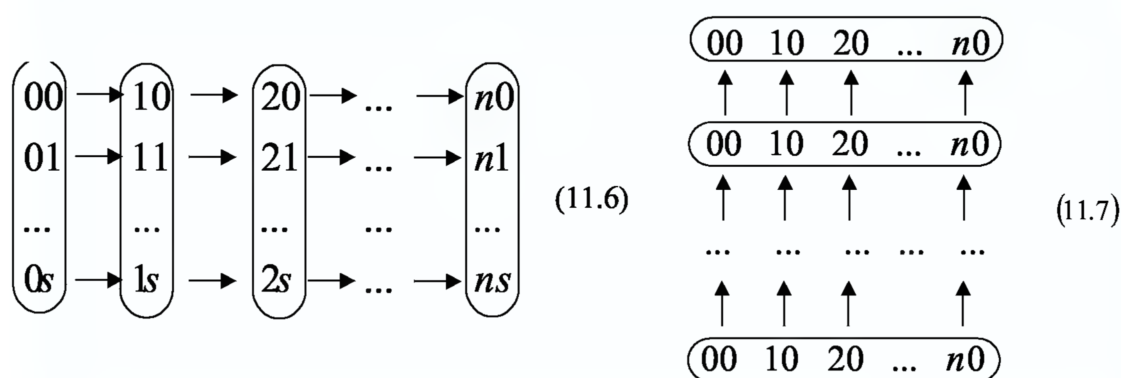
(11.5)

На графе (11.5) *ij* — состояние ФРЦ, у которого *i* электронов находится в донорной и *j* — в акцепторной частях.

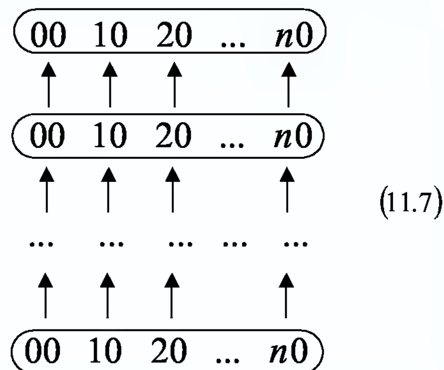
После включения непрерывного света в системе через некоторый промежуток времени установится стационарное состояние, при котором восстановленность всех переносчиков электронов остается неизменной во времени. Если после этого выключить свет, то начнется процесс темповой релаксации переносчиков к исходному состоянию. Ниже описан процесс темновой релаксации переносчиков, составляющих ФРЦ.

11.2. Процесс темновой релаксации

Из схем (11.1) и (11.5) видно, что темновая релаксация ФРЦ после выключения постоянного света (k_0=0) происходит двумя независимыми путями. С одной стороны, это процесс темнового восстановления донорной части ФРЦ, а с другой — это процесс окисления акцепторной части:



(11.6)



(11.7)

На этих схемах для наглядности обведены состояния с фиксированным числом электронов на донорной [схема (11.6)] и акцепторной [схема (11.7)] сторонах ФРЦ.

Из схем (11.6) и (11.7) следует, что кинетика процесса темновой релаксации R_1 и R_2 может быть рассчитана из следующих полностью аналогичных друг другу схем, описывающих мономолекулярные переходы донорной и акцепторной сторон:

$$R_1^0 \xrightarrow{k} R_1^1 \xrightarrow{k} R_1^2 \xrightarrow{k} \ldots \xrightarrow{k} R_1^{n-1} \xrightarrow{k} R_1^n, \tag{11.8}$$

$$R_2^s \xrightarrow{m} R_2^{s-1} \xrightarrow{m} R_2^{s-2} \xrightarrow{m} \ldots \xrightarrow{m} R_2^1 \xrightarrow{m} R_2^0. \tag{11.9}$$

Характерной чертой процесса темповой релаксации R_1 (R_2) является то, что переходы в донорной (акцепторной) части осуществляются с одинаковыми константами скорости k (m), что является следствием быстрого переноса электронов внутри комплекса ФРЦ. В дальнейшем мы ограничимся подробным описанием редокс-превращений лишь донорной стороны ФРЦ. Обозначим через $p_i(t)=P(R_1^i,t)$ вероятность того, что в момент времени t на донорной стороне ФРЦ находится i электронов. Тогда согласно схеме (11.8) для величин p_i имеем следующую систему линейных дифференциальных уравнений:

$$\begin{aligned} &dp_0/dt = -kp_0, \\ &dp_1/dt = -kp_1 + kp_0, \\ &\ldots\ldots\ldots\ldots \\ &dp_{n-1}/dt = -kp_{n-1} + kp_{n-2}, \\ &dp_n/dt = kp_{n-1}. \end{aligned} \tag{11.10}$$

$$p_i(t) = e^{-kt}\left[p_i(0) + p_{i-1}(0)kt + p_{i-2}(0)\frac{(kt)^2}{2!} + \ldots + p_0(0)\frac{(kt)^i}{i!}\right],$$

$$i = 0,1,\ldots,n-1, \quad p_n(t) = 1 - \sum_{i=0}^{n-1} p_i(t), \tag{11.11}$$

где $p_i(0)$ — начальные условия перед выключением света, определяемые исходя из решения системы алгебраических уравнений соответствующих стационарному состоянию ФРЦ, описываемому схемой (11.5). Выражение (11.11) имеет простую вероятностную интерпретацию и может быть получено непосредственно. Действительно, исходя из формулы полных вероятностей [Гихман и др., 1979] вероятность того, что в донорной части ФРЦ содержится i электронов в момент времени t, может быть записана следующим образом:

$$P(R_1^i,t) = p_i(t) = \sum_{j=0}^{n} p_j(0) p_{ji}(t), \qquad (11.12)$$

где $p_{ij}(t)$ — вероятность того, что за время t донорная часть реакционного центра перейдет из состояния с j электронами в состояние с i электронами. Формула (11.12) отражает тот факт, что донорная часть ФРЦ может находиться в состоянии с i электронами в момент времени t, только в том случае, если в начальный момент времени t=0 в ней находилось j электронов (с вероятностью $p_j(0)$), а за время t пришло еще ровно i-j электронов (с вероятностью $p_{ji}(0)$).

Поскольку концентрация восстановленной формы внешнего донора существенно больше концентрации ФРЦ, можно считать, что процесс поступления электронов в ФРЦ от донора D обладает следующими свойствами:

1. Вероятность поступления одного электрона в донорную часть ФРЦ в интервале времени (t, $t+\Delta t$) зависит лишь от длительности этого интервала, а не от начала этого интервала на временной шкале, и равна $k\Delta t + o(\Delta t)$, где k — псевдомономолекулярная константа скорости донирования электронов в ФРЦ, $o(\Delta t)$ — бесконечно малая величина более высокого порядка, чем Δt.
2. Вероятность поступления более чем одного электрона в том же интервале равна $o(\Delta t)$.
3. События, связанные с поступлением электронов в непересекающиеся интервалы времени, независимы. Как известно [Хинчин, 1963; Гнеденко, 1965], в этом случае число электронов, поступившее в ФРЦ в интервале времени (0, t), имеет распределение Пуассона с параметром kt, т. е.

$$p_{ij}(t) = e^{-kt} \frac{(kt)^{i-j}}{(i-j)!} \qquad (11.13)$$

Таким образом, случайная величина, равная числу электронов, поступивших в донорную часть ФРЦ от внешнего донора D после выключения света, имеет распределение Пуассона.

Аналогично этому вероятность $q_i(t) = P(R_2^{s-i},t)$ того, что акцепторная часть ФРЦ имеет i «дырок» в момент времени t, определяется пуассоновским потоком поступления «дырок» и может быть

записана в виде

$$q_i(t) = e^{-mt}\left[q_i(0) + q_{i-1}(0)mt + \ldots + q_0(0)\frac{(mt)^i}{i!}\right],$$

$$q_s(t) = 1 - \sum_{j=0}^{s-1} q_j(t). \qquad (11.14)$$

В этой формуле $q_l(0)$ — вероятность того, что в момент времени перед выключением света на донорной стороне ФРЦ находится l «дырок» или то же $s - l$ электронов.

Нашей основной задачей является нахождение временной зависимости редокс-состояний различных переносчиков электронов, входящих в состав ФРЦ. Поэтому необходимо перейти от восстановленности R_1 и R_2, относительно которых была решена система дифференциальных уравнений, к восстановленности (окисленности) отдельных переносчиков электронов, находящихся соответственно на донорной и акцепторной сторонах ФРЦ.

Вероятность того, что i-й переносчик электронов на донорной стороне ФРЦ находится в окисленном состоянии в силу формул (11.3) и (11.11), определяется следующим выражением:

$$P(D_i^0) = \sum_{l=0}^{i-1} P(R_1^l) = p_0(t) + p_1(t) + \ldots + p_{i-1}(t) =$$

$$= e^{-kt}\left[p_0(0) + \{p_1(0) + ktp_0(0)\} + \ldots + \left\{p_{i-1}(0) + ktp_{i-2}(0) + \ldots + \frac{(kt)^{i-1}}{(i-1)!}p_0(0)\right\}\right] =$$

$$= e^{-kt}\left[p_0(0)\frac{(kt)^{i-1}}{(i-1)!} + \{p_1(0) + p_0(0)\}\frac{(kt)^{i-2}}{(i-2)!}p_0(0) + \ldots + \{p_0(0) + p_1(0) + \ldots + p_1(0)\}\right].$$

Но согласно выражению (11.3) величины, стоящие в фигурных скобках перед степенными членами в последнем равенстве, суть стационарные вероятности того, что первый, второй и т. д. переносчики донорной стороны ФРЦ находятся в окисленной форме. Следовательно, полученное соотношение можно записать в бо-

$$P(D_i^0, t) = e^{-kt}\left[\overline{P}(D_1^0)\frac{(kt)^{i-1}}{(i-1)!} + \overline{P}(D_2^0)\frac{(kt)^{i-2}}{(i-2)!} + \ldots + \right.$$

$$\left. + \overline{P}(D_{i-1}^0)\frac{kt}{1} + \overline{P}(D_i^0)\right]. \qquad (11.15)$$

В этом выражении $P(D_i, t)$ —вероятность того, что i-й перенос-

ном состоянии в момент времени t; $\overline{P}(D_l^0)$— вероятность того, что D_l окислен непосредственно перед выключением света.

Выражение (11.15) показывает, что темновая релаксация пе-

реносчиков электронов, находящихся на донорной стороне ФРЦ, может быть описана исходя из состояний отдельных переносчиков в замкнутом виде, несмотря на то что исходная система уравнений была записана относительно вероятностей застать определенное число электронов в донорной части ФРЦ.

Полученное соотношение, как и выражение (11.11), имеет следующий вероятностный смысл. Для того чтобы в момент времени t переносчик электронов D_i был окислен, необходимо, чтобы в нулевой момент времени он уже находился в окисленном состоянии и за время t в донорную часть ФРЦ не пришло ни одного электрона (вероятность последнего события равна e^{-kt}) или чтобы в нулевой момент времени i-1 переносчик электронов был окислен и за время t в донорную часть ФРЦ пришел ровно один электрон (вероятность последнего события равна $e^{-kt}\cdot kt$) и т. д. или чтобы в нулевой момент времени D_1 окислен и за время t в донорную часть ФРЦ пришло ровно i-1 электронов (вероятность этого события равна $e^{-kt}\dfrac{(kt)^{i-1}}{(i-1)!}$.

Полностью аналогичные выражения справедливы и для восстановленных состояний переносчиков электронов, находящихся на акцепторной стороне ФРЦ:

$$P(A_r^1,t)=e^{-mt}\left[\overline{P}(A_1^1)\frac{(mt)^{r-1}}{(r-1)!}+\overline{P}(A_2^1)\frac{(mt)^{r-2}}{(r-2)!}+\right.$$
$$\left.+\overline{P}(A_3^1)\frac{(mt)^{r-3}}{(r-3)!}+\ldots+\overline{P}(A_r^1)\right],\ r=1,\ 2,\ \ldots,\ s. \qquad (11.16)$$

Здесь $P(A_j,t)$ — вероятность того, что j переносчик на акцепторной стороне ФРЦ находится в восстановленном состоянии; $\overline{P}(A_r^1)$ — вероятность того, что A_r восстановлен в момент времени перед выключением света.

Общие формулы (11.15) и (11.16), описывающие процесс темновой релаксации переносчиков электронов, принимают более простой вид, если задана определенная иерархия констант скорости.

Далее мы кратко рассмотрим эти более простые случаи, а сейчас отметим, что процесс темновой релаксации переносчиков электронов описывается степенными членами, стоящими перед экспонентами. Это приводит к появлению своеобразной временной задержки в темновой релаксации переносчиков, которая зависит от местоположения переносчика электронов в ФРЦ. Физический смысл появления временной задержки темновой релаксации переносчиков электронов можно пояснить на примере донорной части ФРЦ. Электрон, поступивший из среды на D_n, быстро переносится на D_1. Для восстановления второго переносчика необходимо, чтобы из среды поступил еще один электрон, а это в среднем происходит через время $\sim 1/k$ после поступления первого электрона и т. д. Иными словами, временная задержка в темновом восстановлении переносчиков электронов связана с тем, что для восстановления D_l-го

переносчика электронов необходимо предварительно восстановить все переносчики электронов с меньшими номерами. По тем же причинам наблюдается и временная задержка в темновом окислении переносчиков электронов, находящихся на акцепторной стороне реакционного центра.

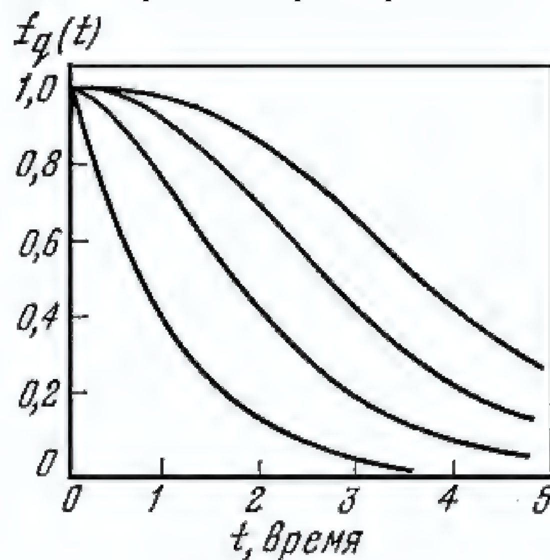


Рис. 52. Схематическое изображение функций (11.17), описывающих темновое восстановление переносчиков электронов, находящихся на донорной стороне ФРЦ

Полученные соотношения позволяют просто ответить на вопрос о зависимости времен темнового восстановления (окисления) переносчиков электронов, находящихся на донорной (акцепторной) стороне ФРЦ от интенсивности действующего света, а также от констант скорости k и m. Действительно, в силу формулы (11.4) вероятность окисленной формы переносчиков тем больше, чем дальше переносчик электронов находится от световой стадии на донорной стороне ФРЦ, поэтому исходя из формулы (11.15) можно записать

$$\overline{P}(D_1^0)f_i(t) \le P(D_i^0) \le \overline{P}(D_i^0)f_i(t),$$

где

$$f_i(t) = e^{-kt}\left[1 + kt + \frac{(kt)^2}{2!} + \ldots + \frac{(kt)^{i-1}}{(i-1)!}\right].$$

Из этого неравенства вытекает, что при достаточно близких величинах окисленности переносчиков D_1 и D_i кинетика темнового восстановления переносчика D_i определяется функцией $f_i(t)$. Как следует из проведенного в гл. 10 анализа степень окисленности переносчиков электронов близка при насыщающей интенсивности действующего света, при условии, что $k<m$. На рис. 52 приведена в качестве примера функция $f_q(t)$ при различных значениях параметра q. Из рисунка видно, что в процессе темповой релаксации выполняется соотношение окисленностей переносчиков, даваемое выражением (11.4), — чем больше номер переносчика, тем больше его окисленность. Кроме того, время темнового восстановления переносчиков электронов также существенно зависит от расположения переносчика в ФРЦ, чем больше номер переносчика, тем дольше

этот переносчик восстанавливается.

Кинетика темновой релаксации переносчиков электронов описывается функцией $f_a(t)$ только при насыщающей интенсивности света, когда окисленности всех переносчиков, находящихся на донорной стороне ФРЦ, близки к максимальной. Для полной характеристики кинетики необходимо знать зависимость окисленности переносчиков как функцию констант скорости. Однако кинетику редокс-состояний переносчиков качественно можно описать и не зная точно зависимости стационарной окисленности переносчиков от интенсивности света. Действительно, при низкой интенсивности света окисляется лишь переносчик электронов с самым большим номером, т. е. D_n. Из формулы (11.15) в этом случае вытекает, что кинетика темнового восстановления этого переносчика должна быть экспоненциальной — с показателем экспоненты, равным —kt. При увеличении интенсивности света происходит также окисление переносчиков электронов с меньшими номерами, что приводит согласно (11.15) к появлению степенных членов перед экспонентами и к временной задержке темнового восстановления. Таким образом, из проведенного анализа следует, что зависимость времени темнового восстановления переносчиков электронов от интенсивности света должна быть монотонно возрастающей — чем выше интенсивность предшествующего выключению света, тем больше время темнового восстановления переносчиков электронов, находящихся на донорной стороне ФРЦ. Аналогичная зависимость имеет место и для переносчиков на акцепторной стороне ФРЦ.

На рис. 53 приведена кинетика темнового восстановления высокопотенциального цитохрома в хроматофорах

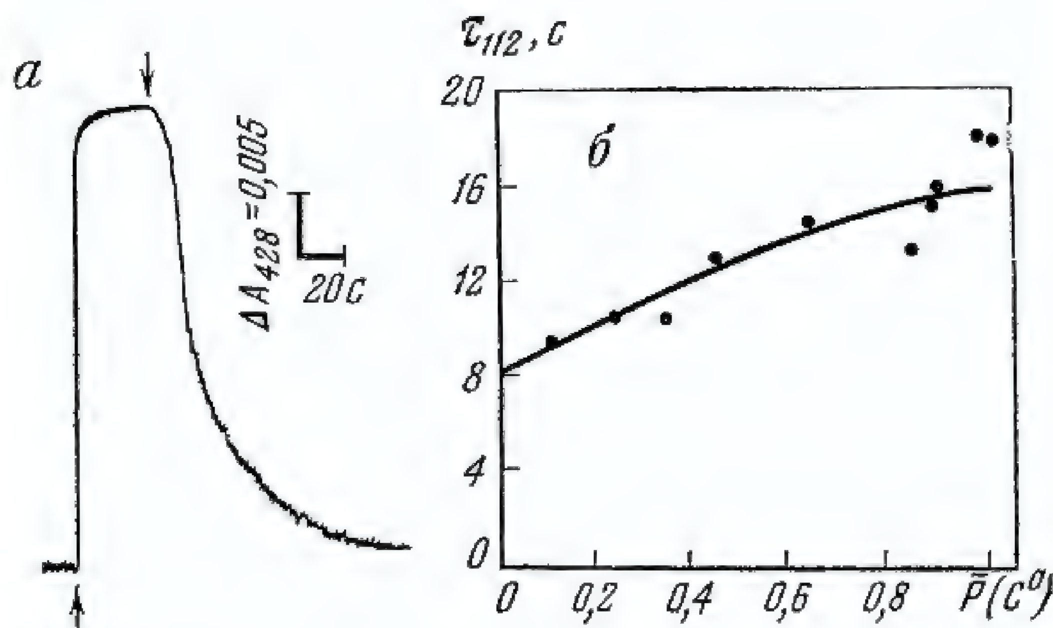


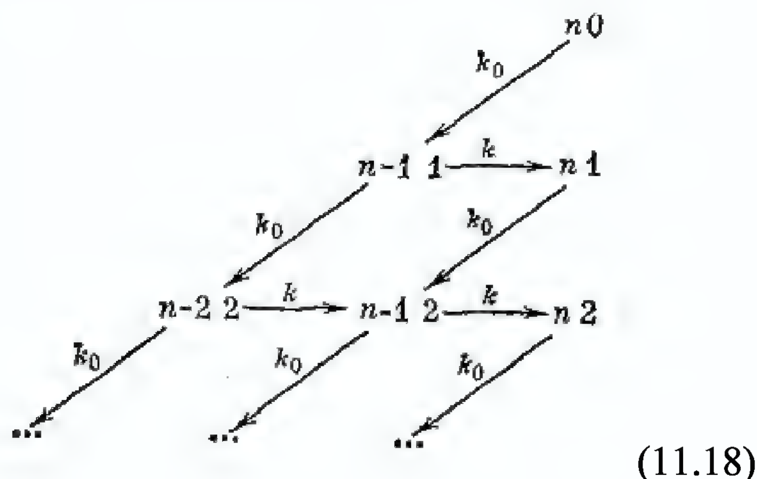
Рис. 53. Кинетика редокс-превращений высокопотенциального цитохрома в хроматофорах фотосинтезирующей бактерии Ectothiorhodospira shaposhnikovii при насыщающей интенсивности действующего света (*а*), а также зависимость времени темнового восстановления этого цитохрома от уровня его стационарной фотоокисленности (*б*) [Поттосин и др., 1982]

Стрелками указаны моменты включения (↑) и выключения света (↓)

бактерии E. shaposhnilovii (*а*), а также зависимость времени темнового восстановления этого цитохрома от интенсивности света (*б*). Из рисунка видно наличие временной задержки в темновом восстановлении цитохрома (D_2) после выключения света и возрастание времени темнового восстановления при увеличении интенсивности предшествующего освещения. Следует, однако, отметить, что при выделении хроматофоров, возможно, нарушен циклический транспорт электронов, при наличии которого наблюдается другая зависимость времени темнового восстановления от интенсивности света [Pyt'eva et al., 1976]. Таким образом, зависимость времени темнового восстановления цитохрома от интенсивности света может служить критерием нециклического транспорта электронов. Сделанный нами вывод полностью согласуется с аналогичным утверждением, полученным при численном анализе на ЭВМ бимолекулярных реакций переноса электронов в бактериальном фотосинтезе [Pyt'eva et al., 1976].

11.3. Кинетика переходных процессов при включении света

Кинетика редокс-превращений переносчиков электронов под действием постоянного света имеет достаточно сложный вид. Однако если поток электронов лимитирован скоростью оттока или притока электронов в ФРЦ, то можно получить достаточно простое решение системы дифференциальных уравнений, описывающих перенос электронов согласно схеме (11.1). Действительно, в темноте реакционный центр находится в состоянии ($n0$), в котором все переносчики на донорной стороне ФРЦ восстановлены, а переносчики на акцепторной стороне — окислены. При активации ФРЦ квантом света электрон от D_1 перейдет на A_1, после чего электрон в акцепторной части быстро перейдет на A_s, а «дырка» на донорной части перейдет на D_n, т. е. реакционный центр окажется в состоянии (n—1 1). Дальнейшее поведение ФРЦ целиком зависит от того, что произойдет быстрее — вынос электрона из акцепторной части (с константой скорости m), приход электронов в донорную часть (с константой скорости k) или активация ФРЦ вторым квантом (с константой скорости k_0). Если лимитирующим процессом является вынос электронов из акцепторной части k, $k_0>m$, то переходы ФРЦ будут происходить в основном с константами скорости k_0 и k, как это показано на схеме.



(11.18)

Причем этот процесс будет происходить до тех пор, пока либо не

восстановится вся акцепторная часть ФРЦ, либо не окислится вся донорная часть в зависимости от того, $n>s$ или $n<s$. Если число переносчиков на донорной стороне больше, чем на акцепторной ($n>s$), то легко получить решение системы уравнений, описывающей переходы на схеме (11.18). Обозначим через $x_i(t)$ вероятность того, что через время t после включения действующего света на акцепторной стороне ФРЦ имеется i электронов. В начальный момент времени электронов в акцепторной части не было, и они попадают в нее лишь после световой активации ФРЦ [см. схему (11.18)].

Поэтому $x_i(t)$ равна вероятности того, что за время t в ФРЦ придет i квантов. Поскольку приход квантов образует пуассоновский поток с интенсивностью k_0, то можно записать:

$$x_i(t) = \frac{(k_0 t)^i}{i!} e^{-k_0 t} . \qquad (11.19)$$

Если лимитирующим является процесс поступления электронов в донорную часть ФРЦ ($k<k_0$, m), а число переносчиков электронов на акцепторной стороне больше, чем на донорной ($s>n$), то вероятность $y_i(t)$ того, что на донорной стороне ФРЦ находится j «дырок» ($n—j$ электронов), равна вероятности того, что реакционный центр будет активирован ровно j раз:

$$y_j(t) = \frac{(k_0 t)^j}{j!} e^{-k_0 t} . \qquad (11.20)$$

От числа электронов (дырок) в акцепторной (донорной) части ФРЦ необходимо перейти к восстановленности отдельных переносчиков. Согласно соотношению (11.3) восстановленность переносчика D_l определяется следующим соотношением:

$$P(D_l^1) = \sum_{q=0}^{n-l} P(R_1^{l+q}) = y_0 + y_1 + \ldots + y_{n-l} =$$

$$= e^{\quad 0} \; 1 + k_0 t + \ldots + (k_0 t) \quad /(n-l)! \; . \qquad (11.21)$$

Таким образом, при $s>n$, $k<<k_0$, m кинетика окисления переносчиков электронов, находящихся на донорной стороне ФРЦ, носит S-образный характер. S-образность тем более выражена, чем ближе переносчик электронов находится к световой стадии. Выражение, описывающее изменение восстановленности переносчиков $D_1, \ldots, D_n$, полностью совпадает с (11.17), с той лишь разницей, что в (11.21) вместо k стоит k_0. Следовательно, представление о характере изменения во времени восстановленной формы D_l, можно получить из рис. 52.

Временная задержка в окислении переносчиков электронов на донорной стороне ФРЦ обусловлена тем, что вследствие быстрого переноса электронов между ними приход возбуждения приводит к окислению D_1 и быстрой (быстрее времени прихода следующего возбуждения) миграции дырки к D_n. Приход второго возбуждения

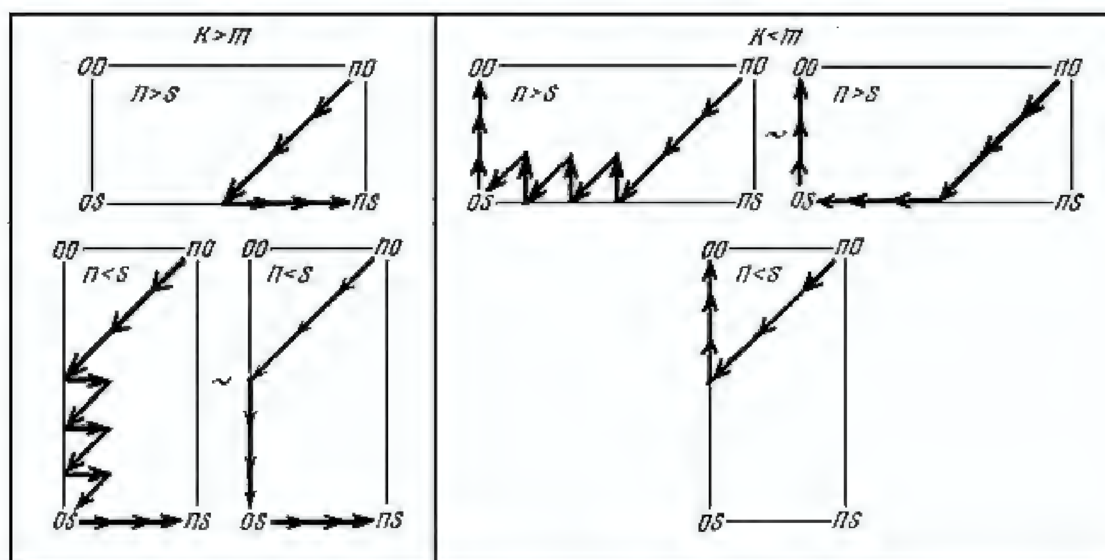


Рис. 54. Схематическое изображение последовательности переноса электрона в ФРЦ пурпурных бактерий при различных соотношениях между величинами констант скорости

приводит к окислению D_{n-1} и т. д. Таким образом, прежде чем окислить, скажем, первый переносчик D_1 (на временах, сопоставимых со временем прихода возбуждения), необходимо окислить все предыдущие переносчики [Malkin, Silberstein, 1972].

Аналогично кинетика окисленной формы акцептора A_r в предположении, что $n>s$, $m \ll k_0$, k, описывается выражением:

$$P(A_r^0) = e^{-k_0 t}\left(1 + k_0 t + \ldots + (k_0 t)^{s-r} / (s-r)!\right). \qquad (11.22)$$

Следовательно, кинетика восстановления акцепторов в этих условиях также имеет *S*-образный характер, причем *S*-образность тем более выражена, чем ближе к световой стадии расположен переносчик электронов. Рассмотрим более общий случай, когда кинетика редокс-превращений отдельных переносчиков электронов определяется не только световой константой скорости, но и константами скорости обмена электронами ФРЦ со средой. Для простоты анализа будем считать, что $k_0 \gg k$, m (насыщающая интенсивность света). Удобно отдельно рассмотреть случаи $k>m$ и $m>k$, поскольку, как показано ниже, соотношение величин этих констант скорости определяет качественно различное поведение переносчиков электронов.

1 $k_0 \gg k > m$:

А. $n>s$. После активации действующим светом (рис. 54) ФРЦ из состояния (n 0) за достаточно малый промежуток времени $\sim s/k$, перейдет в состояние (n—s s), в котором все переносчики электронов, находящиеся на акцепторной стороне, восстановлены, а переносчики электронов на донорной стороне, имеющие номера от n—s +1 до n, будут окислены:

$$(n\ 0) \xrightarrow{k_0} (n-1 1) \xrightarrow{k_0} \ldots \xrightarrow{k_0} (n-s\ s). \qquad (11.23)$$

Перенос электронов, описываемый этой схемой, определяется, пуассоновским потоком квантов света. Отсюда следует, что на временной шкале $1/k_0 \leq t \leq s/k_0$ кинетика изменения восстановленности переносчиков D_{n-s+1}, ..., D_n совпадает с кинетикой окисления переносчиков A_1, ..., A_s,

$$P(D_l^1) = e^{-k_0 t}\left(1 + k_0 t + \ldots + (k_0 t)^{n-l} / (n-l)!\right), \; l = n\text{-}s+1, \ldots, n, \qquad (11.24)$$

$$P(A_r) = e^{\quad 0} \; 1 + k_0 t + \ldots + (k_0 t) \quad /(s-r)! \; , \; r = 1, \ldots, s. \qquad (11.25)$$

Дальнейшая эволюция ФРЦ связана в основном с поступлением электронов от внешнего донора и приводит к изменению восстановленности лишь переносчиков электронов, находящихся на донорной стороне:

$$(n-s\;s) \xrightarrow{k} (n-s+1\;s) \xrightarrow{k} \ldots \xrightarrow{k} (n\;s) \qquad (11.26)$$

Поскольку $k_0 > k$, то можно считать, что на временах ~1/k >> $1/k_0$ процесс, описываемый схемой (11.23), уже закончился. Процесс восстановления переносчиков электронов D_{n-s+1}, ..., D_n, согласно схеме (11.26) связан с пуассоновским потоком поступления электронов от внешнего донора. Поэтому вероятность того, что через время $t > 1/k_0$ после включения света в донорную часть поступило q электронов, равна [см. формулу (11.13)]

$$\frac{(kt)^q}{q!} e^{-kt}. \qquad (11.27)$$

Приход первого электрона приводит к восстановлению D_{n-s+1}, приход второго — к восстановлению D_{n-s+2} и т. д. Поэтому для вероятности того, что D_l находится в окисленной форме, можно

$$P(D_l^0) = e^{-kt}\left(1 + kt + \ldots + \frac{(kt)^{l-(n-s+1)}}{[l-(n-s+1)]!}\right), \; l = n\text{-}s+1, \ldots, n. \qquad (11.28)$$

Таким образом, в рассматриваемом случае кинетика окисления D_{n-s+1},..., D_n индуцированного светом, имеет немонотонный характер — сначала происходит окисление [схема (11.23)], а затем восстановление переносчиков [схема (11.26)] (рис. 55). Вместе с тем кинетика восстановления A_1 . . . , A_s монотонна (рис. 55).

Б. Пусть $k_0 >> k > m$ и, кроме того, число переносчиков электронов на акцепторной стороне больше, чем на донорной ($n<s$). В этом случае схема переноса электронов после включения света будет иметь вид (см. также рис. 54)

$$(n\;0) \xrightarrow{k_0} (n-1\;1) \xrightarrow{k_0} \ldots \xrightarrow{k_0} (0\;n) \xrightarrow{k} (1\;n) \xrightarrow{k_0} (0\;n+1) \xrightarrow{k} \ldots$$

$$\ldots \xrightarrow{k_0} (0\;s) \xrightarrow{k} (1\;s) \xrightarrow{k} \ldots \xrightarrow{k} (n\;s). \qquad (11.29)$$

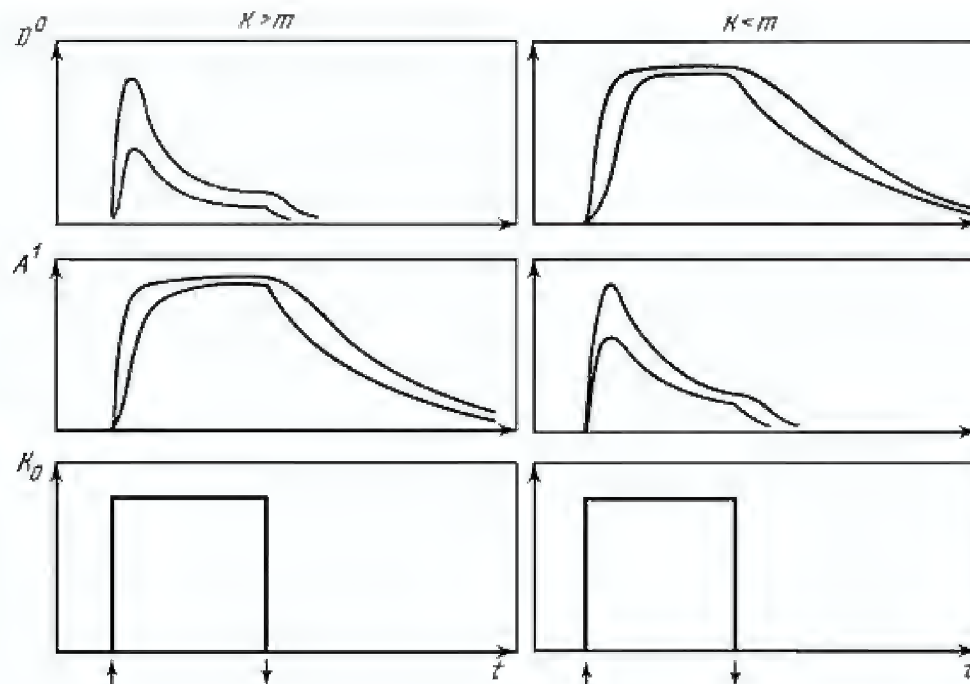


Рис. 55. Теоретические кривые кинетики восстановленности и окисленности переносчиков электронов, находящихся на донорной и акцепторной сторонах ФРЦ, при включении (↑) и выключении (↓) действующего света

Поскольку $k_0 >> k$, то на временной шкале $1/k_0 \le t \le (n\text{-s})/k_0$ можно пренебречь переходами с константой скорости k. Тогда поведение переносчиков описывается схемой (11.23), в которой n=s. Поэтому для этой временной шкалы справедливы выражения, совпадающие с выражениями (11.24), (11.25):

$$P(D_l^1) = e^{-k_0 t}\left(1 + k_0 t + ... + (k_0 t)^{n-l} / (n-l)!\right), \ l = 1, 2, ..., n, \qquad (11.30)$$

$$P(A_r) = e \quad {}^{0} \ 1 + k_0 t + ... + (k_0 t) \qquad /(s-r)! \ , \ r = s - n + 1, ..., s. \qquad (11.31)$$

Эти формулы показывают, что изменение восстановленности (окисленности) переносчиков электронов сразу после включения света носит S-образный характер. Полученные формулы описывают редокс-превращения только A_{s-n+1}, ..., A_s, поскольку редокс-превращения A_1, ..., A_{s-n} происходят с константой скорости k и могут не учитываться на рассматриваемой временной шкале. Так как $k_0 > k$, то на временной шкале $1/k \le t$ можно исключить маловероятные состояния с константой выхода k_0 и записать процесс, реализующийся после перехода к состоянию (0 n) в виде (см. также рис. 54):

$$(0\,n) \xrightarrow{k} (0\,n+1) \xrightarrow{k} ... \xrightarrow{k} (0\,s) \xrightarrow{k} (1\,s) \xrightarrow{k} ... \xrightarrow{k} (n\,s) \qquad (11.32)$$

Эта схема показывает, что на временной шкале $1/k \leq t$ ФРЦ с константами скорости k переходит в состоянии со все большим числом электронов в акцепторной части:

$$(0\,n)\xrightarrow{k}(0\,n+1)\xrightarrow{k}\ldots\xrightarrow{k}(0\,s) \qquad (11.33)$$

Лишь после заполнения акцепторов станет невозможным перенос электронов $D_1 \to A_1$ и начнется восстановление переносчиков электронов донорной стороны ФРЦ:

$$(0\,s)\xrightarrow{k}(1\,s)\xrightarrow{k}\ldots\xrightarrow{k}(n\,s) \qquad (11.34)$$

Следовательно, на рассматриваемых временах редокс-превращения $A_1,\ldots, A_s$ и $D_1,\ldots, D_n$ обусловлены пуассоновским потоком поступления электронов в донорную часть ФРЦ и определяются

$$P(A_r^0) = e^{-kt}\left(1 + kt + \ldots + (kt)^{s-n-r}/(s-n-r)!\right),\ r = 1, 2, \ldots, s-n, \qquad (11.35)$$

$$P(D_l^1) = e^{-kt}\left(1 + kt + \ldots + (kt)^{s-n+l-1}/(s-n+l-1)!\right),\ l = 1, 2, \ldots, n. \qquad (11.36)$$

Таким образом, при включении света наблюдается монотонное увеличение восстановленности переносчиков $A_1,\ldots, A_s$ [формулы (11.31), (11.35)] и немонотонное изменение во времени восстановленности переносчиков электронов $D_1,\ldots, D_n$ [формулы (11.30), (11.36)]. Причем, если окисление переносчиков $D_1,\ldots, D_n$ обусловлено в основном световой константой скорости, то последующее их восстановление целиком обусловлено поступлением электронов от внешнего донора и определяется величиной константы скорости k. Отличие случаев $n>s$ и $s>n$ состоит в том, что при $s>n$ кинетика переносчиков $D_1,\ldots, D_n$ характеризуется временной задержкой восстановления (рис. 55).

Эта задержка тем больше, чем больше емкость акцепторной части ФРЦ по сравнению с емкостью донорной части.

В рассмотренном нами приближении предполагалось, что константа скорости оттока электронов из реакционного центра равна нулю. Это привело к тому, что стационарная окисленность (восстановленность) переносчиков $D_1,\ldots, D_n$ ($A_1,\ldots, A_s$) близка к нулю (единице). В общем случае ($m \neq 0$) величина стационарной окисленности (восстановленности) отлична от нуля (единицы) тем больше, чем дальше переносчик электронов находится от световой стадии.

Благодаря симметрии в переносе электронов в акцепторной и дырок в донорной частях ФРЦ, рассмотрение случая $m>k$ аналогично выше — проведенному анализу. Таким образом, если $k>m$, то при включении света происходит S-образное восстановление переносчиков электронов на акцепторной стороне ФРЦ и немонотонное окисление переносчиков электронов, находящихся на донорной сто-

роне ФРЦ, если же $m>k$, то при включении света происходит S-образное окисление переносчиков электронов, находящихся на донорной стороне, и немонотонное восстановление переносчиков электронов, находящихся на акцепторной стороне ФРЦ (рис. 55).

Заключение

В настоящей главе и гл. 9, 10 рассмотрена обобщенная кинетическая модель переноса электронов в комплексе ФРЦ фототрофных бактерий и высших растений.

Особенностью этой модели является учет иерархии величин констант скорости и энергетического профиля переноса электронов в ФРЦ. Перечислим важнейшие особенности переходных процессов в ФРЦ при включении и выключении постоянного света, обнаруженные при анализе этой модели.

1. На отрезках времени сопоставимых или больших, чем время обмена электронами между ФРЦ и средой, восстановленность переносчиков электронов на донорной (акцепторной) стороне соответствует их потенциалу полувосстановления: чем выше редокс-потенциал переносчика, тем выше его восстановленность. Сказанное справедливо как для стационарного режима, так и для переходных процессов.

2. Свет индуцирует окисление переносчиков электронов, находящихся на донорной стороне ФРЦ, и восстановление переносчиков электронов, находящихся на акцепторной стороне; причем сначала окисляется самый далекий от световой стадии переносчик электронов (D_n), затем более близкий (D_{n-1}), и т. д. Аналогично этому сначала восстанавливается A_s, затем A_{s-1} и т. д.

3. Характер переходного процесса, индуцированного освещением, определяется соотношением величин констант скорости k/m. Если константа скорости k притока электронов в ФРЦ существенно больше, чем константа скорости m оттока электронов из ФРЦ ($k>m$), то при включении света наблюдается немонотонное окисление переносчиков электронов на донорной стороне ФРЦ (рис. 55) и S-образное восстановление переносчиков электронов на акцепторной стороне ФРЦ (рис. 55). Если же $m > k$, то наблюдается S-образная кинетика окисления переносчиков на донорной стороне и немонотонное восстановление переносчиков электронов на акцепторной стороне ФРЦ.

4. При выключении света переносчики $D_1,..., D_n$ восстанавливаются, а переносчики $A_1,..., A_s$ окисляются. Характерной особенностью кинетик темнового восстановления и окисления переносчиков является S-образность и связанная с ней временная задержка в темновом восстановлении (окислении), тем большая, чем дальше переносчик электронов находится от световой стадии (рис. 55).

Отметим в заключение, что рассмотренный в гл. 9—11 подход может оказаться полезным при анализе не только переноса электронов в ближайшем донорно-акцепторном окружении ФРЦ, но и при анализе функционирования комплекса bc_1, сопряженного с ФРЦ.

Глава 12

КИНЕТИКА ВОССТАНОВЛЕНИЯ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА, ОКИСЛЕННОГО ИМПУЛЬСНЫМ И ПОСТОЯННЫМ СВЕТОМ В ХРОМАТОФОРАХ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ

В ряде работ [Clayton, 1962; McElroy et al., 1974; Лукашев и др., 1975; Чаморовский и др., 1976; 1977; Lukashev et al., 1976; Chamorovsky et al., 1976; Нокс и др., 1977; Кононенко, 1980; Фабиан и др., 1980; Петров и др., 1983] исследована температурная зависимость кинетики темнового восстановления фотохимически активного пигмента (димера бактериохлорофилла, P870) в целых клетках, изолированных хроматофорах и препаратах ФРЦ различных пурпурных бактерий при высоких редокс-потенциалах среды ($E_н \geq 350$ мВ). В этих условиях, в темноте, восстановлен только пигмент ФРЦ, и после окисления под действием света он может получать электрон лишь от фотовосстановленных эндогенных акцепторов. Как правило, обнаруживаются два кинетических компонента темнового восстановления пигмента [Лукашев и др., 1975; Чаморовский и др., 1977]. При комнатной температуре (рис. 56) наблюдается только компонент со временем 1÷10 с и более, связанный с восстановлением пигмента от вторичных акцепторов электронов. Понижение температуры до 270—240 К приводит к появлению более быстрого компонента со временем 25—100 мс (рис. 56), обусловленного, по-видимому, обратным переносом электронов от первичного хинона на пигмент ФРЦ.

При понижении температуры относительный вклад быстрого компонента возрастает, а вклад медленного — уменьшается. Аналогичный эффект вызывает и уменьшение влажности препаратов [Нокс и др., 1979; Nikolaev et al., 1980]. Этот эффект, по-видимому, связан с замедлением переноса электронов между первичным (Q_I) и вторичным (Q_{II}) хинонами, что подтверждается появлением быстрого компонента уже при комнатной температуре, если перенос электронов ингибирован *о*-фенантролином [Лукашев и др., 1975; Chamorovsky et al., 1976].

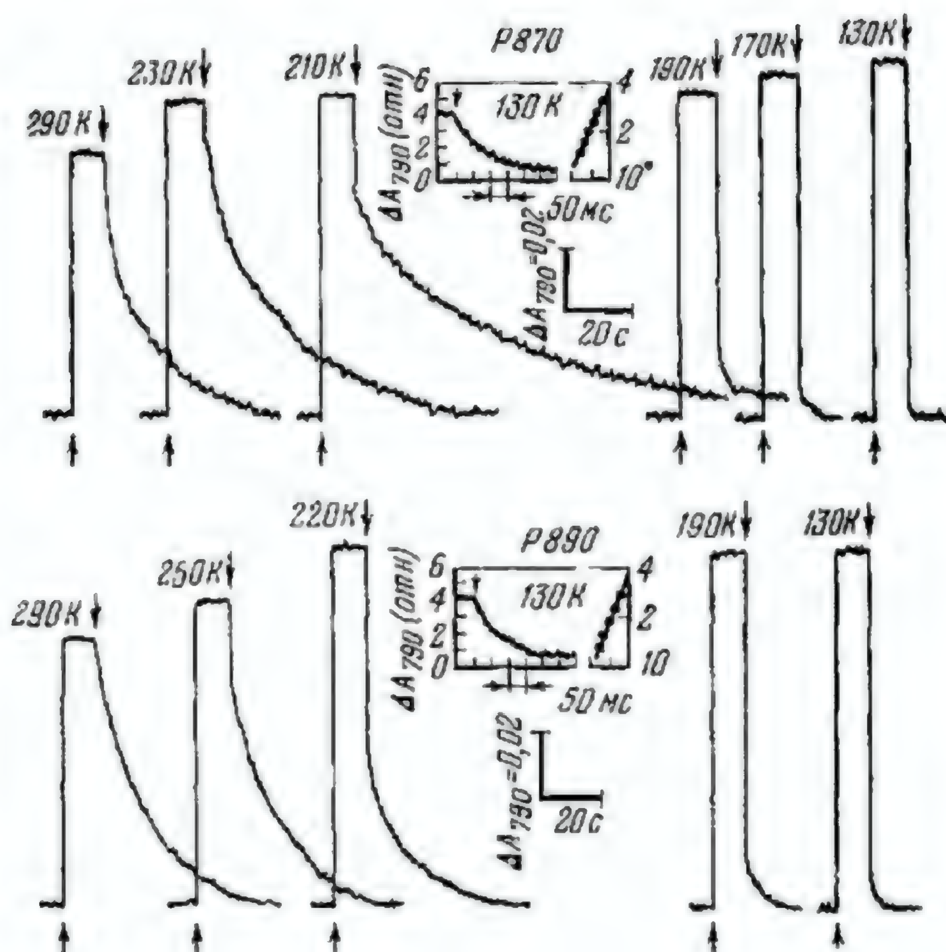


Рис. 56. Кинетика фотоиндуцированныу окислительно-восстановительных превращений бактериохлорофилла P870 в хроматофорах Rhodospirillum rumbrum и P890 в хроматофорах Ectothiorhodospira shaproshnikovii, измеренная по изменению поглощения при 790 нм при температурах между 298 и 230 К [Lukashev et al., 1976]

В данной главе проанализирована схема переноса электронов в ближайшем донорно-акцепторном окружении ФРЦ пурпурных бактерий и предложены способы расчета величины константы скорости переноса электронов от первичного хинона ко вторичному по данным кинетики редокс-превращений пигмента в окислительных условиях.

12.1. Схема переноса электронов

Общепринятая схема переноса электронов в хроматофорах и реакционных центрах пурпурных бактерий в окислительных ус-



$$P \underset{k_{-0}}{\overset{k_0}{\rightleftarrows}} Q_I \underset{m_{-1}}{\overset{m_1}{\rightleftarrows}} Q_{II} \qquad (12.1)$$

Здесь P — фотохимически активный пигмент ФРЦ; Q_I, Q_{II} — со-

ответственно первичный и вторичный хинонные акцепторы электронов ФРЦ, k_0 — «световая» константа скорости, пропорциональная интенсивности действующего света. Смысл остальных констант скорости ясен из схемы.

После возбуждения P электрон от него попадает на первичный хинон (со временем ~200 пс), а затем на вторичный хинон (со временем ~0,1—2 мс). Возврат электрона от Q_{II} на P может происходить двумя путями.

Первый, циклический, это перенос электронов с константой



Он осуществляется либо путем непосредственного туннелирования электрона, либо через промежуточные переносчики электронов. В последнем случае k — минимальная из констант скорости циклического транспорта электронов.

Второй путь — это возврат электрона через первичный хинон



При комнатной температуре, вследствие того что $m > m_{-1}$, электроны возвращаются на пигмент, по-видимому, по схеме (12.2). Вместе с тем, при более низких температурах, а также в препаратах изолированных ФРЦ определенную роль может играть перенос электронов согласно схеме (12.3).

Ниже проведен анализ температурной зависимости кинетики переноса электронов в ближайшем донорно-акцепторном окружении ФРЦ на основе минимальной схемы (12.1), объединяющей схемы (12.2) и (12.3).

12.2. Кинетическая модель

В окислительных условиях в ФРЦ находится только один электрон, поэтому переходы между состояниями ФРЦ имеют



Система дифференциальных уравнений, описывающая эти переходы, имеет следующий вид:

$$dp/dt = k_0(1-p-q)-(m_1+k_{-0})p+m_{-1}q,$$
$$dq/dt = m_1 p-(m_{-1}+k)q, \qquad (12.5)$$

где p, q — есть вероятности того, что первичный и вторичный хиноны находятся в семихинонной форме соответственно.

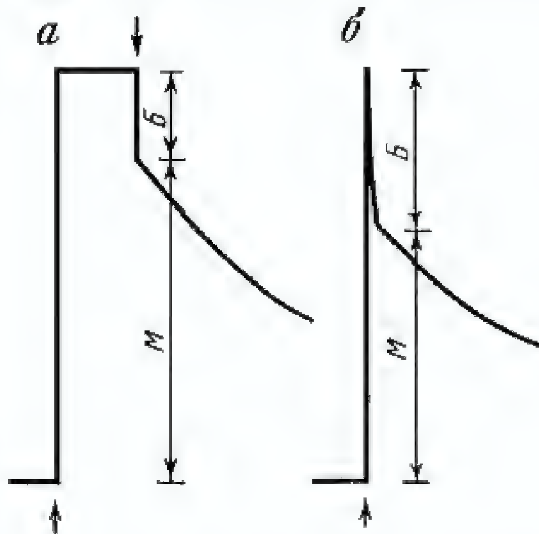


Рис. 57. Схематическое изображение кинетики редокс-превращений пигмента ФРЦ, индуцированное постоянным *(а)* и импульсным *(б)* светом

Подчеркнем, что в схеме (12.4) предполагается, что обменом электронами между ФРЦ и средой можно пренебречь. Это допущение подтверждается тем, что в эксперименте наблюдается многократная воспроизводимость полностью обратимого фотоокисления бактериохлорофилла во всем изученном диапазоне температур в отсутствие экзогенных доноров [Лукашев и др., 1975]. Процесс темновой релаксации ФРЦ также может быть описан системой уравнений (12.5), если положить в последней величину «световой» константы скорости k_0 равной нулю:

$$dp/dt = -(m_1 + k_{-0})p + m_{-1}q, \qquad (12.6)$$
$$dq/dt = m_1 p - (m_{-1} + k)q,$$

Решение системы линейных уравнений (12.6) может быть записано в следующем виде:

$$p = c_1 e^{-\lambda_1 t} + c_2 e^{-\lambda_2 t}, \qquad (12.7)$$
$$q = c_1 m_1 e^{-\lambda_1 t} / (k + m_{-1} - \lambda_1) + c_2 m_2 e^{-\lambda_2 t} / (k + m_{-1} - \lambda_2),$$

где величины λ_1 и λ_2 подчиняются ограничениям

$$\lambda_1 + \lambda_2 = k_{-0} + m_1 + m_{-1} + k, \quad \lambda_1 \cdot \lambda_2 = k(k_{-0} + m_1) + m_{-1}k_{-0}, \qquad (12.8)$$

а

$$c_1 = \frac{p(0)b(\lambda_2) - q(0)}{b(\lambda_2) - b(\lambda_1)}; \quad c_2 = \frac{q(0) - p(0)b(\lambda_1)}{b(\lambda_2) - b(\lambda_1)} \qquad (12.9)$$

$$c_1 = \frac{m_1}{k + m_{-1} - \lambda}. \qquad (12.10)$$

В соответствии с формулами (12.9) p(0), q(0) — начальные условия, зависящие от режима освещения. С учетом формул (12.7—10) выражение, описывающее кинетику темнового восстановления фотоокисленного пигмента, имеет вид

$$P(P^0) = p + q = \frac{c_1(\lambda_2 - k_{-0})}{k + m_{-1} - \lambda_1} e^{-\lambda_1 t} + \frac{c_2(\lambda_1 - k_{-0})}{k + m_{-1} - \lambda_2} e^{-\lambda_2 t} \equiv$$
$$\equiv Б e^{-\lambda_1 t} + M e^{-\lambda_2 t} \qquad (12.11)$$

Экспериментально определяемыми величинами в этом выражении являются показатели экспонент λ_1 и λ_2, а также отношение амплитуд предэкспоненциальных членов (рис. 57). Будем считать, что λ_1 соответствует «быстрой» компоненте темнового восстановления пигмента, а λ_2 — «медленной». Тогда исходя из формулы (12.11) можно записать следующее выражение для отношения амплитуд быстрой и медленной компонент

$$Б/М = \frac{c_1(\lambda_2 - k_{-0})(k + m_{-1} - \lambda_2)}{c_2(\lambda_1 - k_{-0})(k + m_{-1} - \lambda_1)} =$$

$$= \frac{c_1(\lambda_2 - k_{-0})b(\lambda_1)}{c_2(\lambda_1 - k_{-0})b(\lambda_2)} \equiv \delta \frac{(k_{-0} - \lambda_2)}{(\lambda_1 - \lambda_2)}, \quad (12.12)$$

где $\delta = -c_1 b(\lambda_1)/[c_2 b(\lambda_2)]$.

Полученные выражения (12.7÷12) справедливы для активации ФРЦ как импульсным, так и непрерывным светом. Рассмотрим по отдельности эти предельные случаи.

12.3. Импульсное освещение

При активации ФРЦ короткой вспышкой света можно считать, что электрон локализован на первичном акцепторе Q_I, т. е. $p(0) = 1$, $q(0) = 0$. Поэтому выражение (12.12) с учетом формулы (12.9) может быть записано в виде

$$(Б/М)_{им} = \frac{(k_{-0} - \lambda_2)}{(\lambda_1 - \lambda_2)} \quad (12.13)$$

т. е. $\delta_{им} = 1$.

Переходя к относительному вкладу быстрого компонента (Х=Б/(Б+М)) темнового восстановления пигмента, получим

$$X_{им} = \frac{(k_{-0} - \lambda_2)}{(\lambda_1 - \lambda_2)} \quad (12.14)$$

Можно рассматривать соотношения (12.8) и (12.14) как систему уравнений для определения неизвестных констант скорости m_1, m_{-1}, k_{-0}, k. Существенно отметить, что независимых уравнений для определения этих четырех констант скорости всего три, и, следовательно, в общем случае нет возможности определить эти константы скорости по отдельности исходя из импульсного эксперимента, в котором производится наблюдение только за окисленной формой пигмента.

Разрешая соотношение (12.14) относительно величины константы скорости «рекомбинации» k_{-0}, можно найти

$$k_{-0} = \lambda_1 X_{им} + \lambda_2 (1 - X_{им}) . \quad (12.15)$$

Таким образом, величина константы скорости k_{-0} может быть точно определена исходя из экспериментально определяемых величин, причем она всегда меньше показателя λ_1 «быстрой» экспоненты, но больше показателя λ_2 «медленной» экспоненты и стремится к λ_1 по мере увеличения вклада быстрого компонента $X_{им}$.

Учитывая, что в эксперименте всегда [Лукашев и др., 1975; Чаморовский и др., 1977]

$$\lambda_1 >> \lambda_2 \quad (12.16)$$

и подставляя k_{-0} из формулы (12.15) в соотношение (12.8), можно найти

$$m_1+m_{-1}+k = \lambda_1 + \lambda_2 - k_{-0} = \lambda_1(1-X_{им})+\lambda_2 X_{им} \approx \lambda_1(1-X_{им}) \quad (12.17)$$

В силу выражения (12.16) равенство (12.8) переходит в равенство

$$\lambda_1 \approx k_{-0}+m_1+m_{-1}+k \quad (12.18)$$

Поэтому соотношение (12.17) можно переписать в виде

$$(m_1+m_{-1}+k) \approx (k_{-0}+m_1+m_{-1}+k)(1-X_{им}). \quad (12.19)$$

Откуда, разрешая последнее соотношение относительно суммы $(m_1+m_{-1}+k)$ имеем

$$(m_1+m_{-1}+k) = k_{-0}(1-X_{им})/X_{им} \equiv k_{-0} \text{ М/Б}. \quad (12.20)$$

Полученная формула показывает, что рассматриваемая сумма величин констант скорости $(m_1+m_{-1}+k)$ приближенно равна произведению константы скорости k_{-0} переноса электрона от Q_I к P и отношению амплитуд медленного и быстрого компонентов темнового восстановления пигмента.

Формула (12.20) удобна тем, что в ней имеются легко определяемые из эксперимента величины констант скорости обратного переноса электронов k_{-0}, а также вклады быстрого и медленного компонентов темнового восстановления пигмента. Температурную зависимость константы скорости k_{-0} можно получить, например, из температурной зависимости быстрого компонента темнового восстановления пигмента в препаратах, у которых блокирован перенос электронов от первичного хинона ко вторичному с помощью *о*-фенантролина или экстракцией вторичного хинона. По результатам многочисленных наблюдений, суммированных в обзорах [Blankenship, Parson, 1979b; DeVault, 1980] величина характерного времени обратного переноса электронов от Q_I к P практически не зависит от температуры в рассматриваемом нами диапазоне температур 25 ÷ -60° С и составляет обычно 60÷80 мс для различных препаратов и видов бактерий.

Предположим, что

$$m_{-1} >> m_1,\ k, \quad (12.21)$$

т. е. величина константы скорости переноса электронов на участке между первичным и вторичным хинонами больше циклической константы скорости k, а также обратной константы скорости m_{-1}. Отметим, что это предположение заведомо справедливо

Таблица 9. Характерные времена переноса электронов между Q_I и Q_{II} в ФРЦ пурпурных бактерий

Метод	Время, мкс	Объект	Препарат	Литературный
Зондирование фотосинтетического переноса электронов последовательными световыми импульсами	60	Chromatium vinosum	Хроматофоры, pH 7	Parson, 1969
	80	То же	Хроматофоры, pH 8	То же
	1000	»	Анаэробные клетки	»
	200	»	Аэробные клетки	»
	145	Ectothiorhodospira shaproshnikovii	Хроматофоры, pH 7	Chamorovsky et al., 1976
Анализ температурной зависимости кинетики темнового восстановления фотоокисленного бактериохлорофилла ФРЦ	170-330	E. shaproshnikovii	Хроматофоры	Chamorovsky et al., 1976
	280-530	Rs. rubrum	»	То же
	$7{,}7\text{-}10^3$	Rp. sphaeroides	ЛДАО-РЦ	Фабиан и др., 1980
Регистрация фотоиндуцированного сдвига полос поглощения бактериофеофитина ФРЦ	200	Rp. sphaeroides R-26	ФРЦ, pH 7	Wraight, 1979b
	200	То же	То же	Vermeglio, Clayton, 1977
Определение скорости фотоиндуцированного диспропорционирования семихинонов Q_I и Q_{II}	200	Rp. sphaeroides R-26	ФРЦ, pH 7	Wraight, 1979b
	30	Rp. sphaeroides Ala pho^+	Хроматофоры, pH 7	Bowyer et al., 1979

при комнатных температурах. В этом случае соотношение (12.20)

$$m_1 \approx k_{-0}\frac{1\text{-}X_{им}}{X_{им}} \equiv k_{-0}\frac{Б}{М} \qquad (12.27)$$

Эта формула показывает, что величина константы скорости переноса электрона от Q_I к Q_{II} приближенно равна произведению константы скорости k_{-0} обратного переноса электрона от Q_I к P и отношению амплитуд медленной и быстрой компонент темнового восстановления пигмента. Отметим, что формула (12.22) была получена ранее [Лукашев и др., 1975] на основе эвристических соображений, согласно которым вклад быстрой компоненты $X_{им}$ приближенно равен $k_{-0}/(k_{-0}+m_1)$.

При использовании формулы (12.22) для определения температурной зависимости константы скорости m_1 необходимо

иметь в виду, что при низких температурах уже может не выполняться соотношение (12.21). В этом случае исходя из (12.22) будет определяться лишь максимальная из констант скорости суммы (12.20).

Вычисленные по формуле (12.22) значения величин характерного времени переноса электронов между первичным и вторичным хинонами (2-й абзац табл. 9) находятся в хорошем соответствии с временами определенными другими методами. Вместе с тем следует отметить, что данный подход правомерен лишь в рамках исходной схемы (12.1) и может оказаться неверным при учете других процессов, происходящих в ФРЦ, таких, как захват протонов, обмен хинонами ФРЦ с пулом хинонов и т. д.

12.4. Стационарное освещение

Длительное освещение

При активации ФРЦ постоянным светом устанавливается стационарное состояние, и поэтому величины $p(0)$, $q(0)$ могут быть получены из системы алгебраических уравнений, получающихся из формулы (12.5) приравниванием производных нулю, Определенные таким образом величины равны

$$p(0) = \frac{q(0)(m_{-1} + k)}{m_1} \tag{12.23}$$

предэкспоненциальных членов в (12.11) может быть записано в виде

$$(Б/М)_{ст} = \frac{\lambda_2}{\lambda_1}\frac{k_{-0} - \lambda_2}{\lambda_1 - k_{-0}} \tag{12.24}$$

т е. $\delta_{ст} = \lambda_2/\lambda_1$ [см. формулу (12.12)]. Как следует из сопоставления выражений (12.13) и (12.24), соотношение вкладов быстрой и медленной компонент темнового восстановления пигмента при активации ФРЦ постоянным светом достаточно большой продолжительности, может быть записано в виде

$$(Б/М)_{ст} = (Б/М)_{им} \cdot (\lambda_2/\lambda_1) \tag{12.25}$$

Поскольку величины показателей λ_1 и λ_2 имеют, как правило, характерные величины порядка 10 и 10^{-1} [Лукашев и др., 1975; Чаморовский и др., 1977], то полученное соотношение показывает, что быстрый компонент в темповом восстановлении пигмента при импульсной активации ФРЦ значительно превышает таковой при стационарном освещении препаратов. Так как обычно в эксперименте [Лукашев и: др.. 1975; Чаморовский и др., 1977; Захарова и др., 1981] пользуются относительным вкладом быстрого компонента *Х=Б*/(*Б*+*М*)*,* то соотношение (12.26) запишем в виде

$$X_{ст} = \frac{\lambda_2 X_{им}}{\lambda_2 X_{им} + \lambda_1(1 - X_{им})} \qquad (12.27)$$

Таким образом, если справедлива схема переноса электронов (12.1), то темновое восстановление фотоокисленного пигмента после включения стационарного освещения достаточно большой продолжительности не содержит быстрого компонента до тех пор, пока вклад такового при импульсном освещении не будет близок к единице (рис. 58).

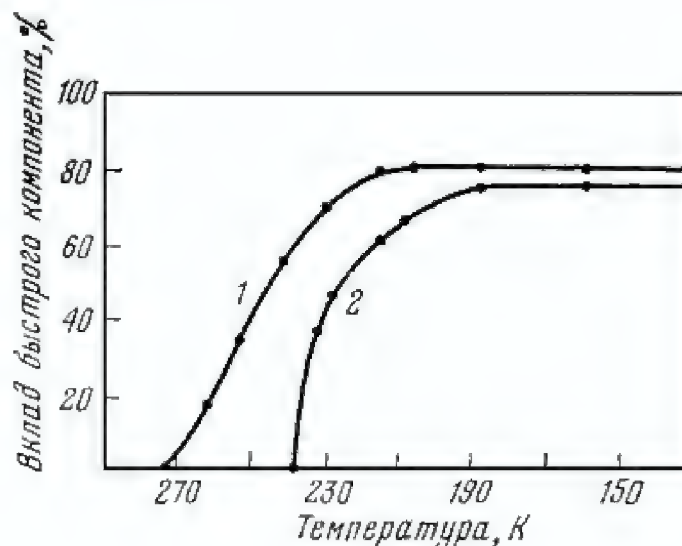


Рис. 58. Зависимость от температуры величины относительного вклада быстрого компонента темнового восстановления Р890 в хроматофорах E. shaposhnikovii при импульсном (лазерном) (1) и постоянном (2) освещении [Чаморовский и др., 1977]

Короткое освещение

В предшествующих расчетах, касавшихся кинетики темнового восстановления пигмента после стационарного освещения, предполагалось что за время освещения стационарное состояние успевает установиться при любой рассматриваемой температуре. Именно в этом предположении было получено соотношение (12.23), а следовательно, и выражение (12.25). На самом, деле, в случае если при понижении температуры константа скорости переноса электрона от Q_I к Q_{II} уменьшается до долей обратных секунд, то стационарное состояние за время освещения (1 — 10 с) установиться не успевает. Следовательно, формулы (12.25—27), связывающие вклады быстрого компонента при импульсном и стационарном освещении, уже перестают быть, справедливыми. Приведем необходимые количественные оценки.

Ниже будем предполагать, что $p(0)+q(0) = 1$, поскольку можно не учитывать те центры, в которых непосредственно перед темновой релаксацией пигмент восстановлен. В силу этого выражение для δ в формуле (12.12) с учетом формулы (12.8) можно переписать в виде

$$\delta = \frac{m_1 - q(0)(\lambda_1 - k_{-0})}{m_1 - q(0)(\lambda_2 - k_{-0})}. \qquad (12.28)$$

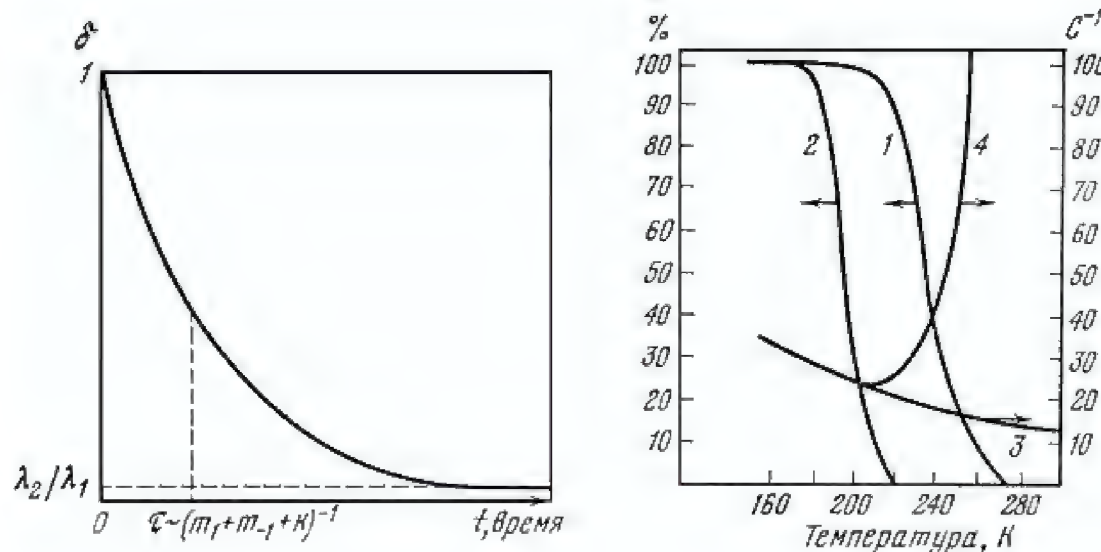


Рис. 59. Теоретическая зависимость коэффициента ρ от времени, рассчитанная по уравнению (12.30)

Рис. 60. Теоретическая температурная зависимость величины относительного вклада быстрого компонента темнового восстановления пигмента при импульсном (1) и стационарном (2) освещении, а также величин констант скорости обратного переноса от Q_I к P (3) обратного времени быстрой компоненты (4)

Заметим, что для нас наиболее интересен случай, когда $k_0 > m_1$, т.е. когда при понижении температуры константа скорости переноса электрона от Q_I к Q_{II} стала меньше константы скорости обратного переноса от Q_I к *P*, поскольку только при таком соотношении наблюдается заметный вклад быстрого компонента в темновое восстановление пигмента. В этом случае при насыщающей интенсивности света ($k_0 > k_{-0} > m_1$) в силу быстрого усреднения электрона между *P* и Q_I можно записать следующее выражение для зависимости восстановленности вторичного хинона от времени после включения постоянного света:

$$q(t) \cong \frac{m_1}{m_1 + m_{-1} + k}\left(1 - e^{-(m_1 + m_{-1} + k)t}\right) \tag{12.29}$$

Подставляя полученное выражение вместо $q(0)$ в соотношение (12.28) с учетом выражения (12.8), получим следующую зависимость коэффициента δ от времени:

$$\delta = \frac{\lambda_2 + (\lambda_1 - k_{-0})e^{-(m_1 + m_{-1} + k)t}}{\lambda_1 + (\lambda_2 - k_{-0})e^{-(m_1 + m_{-1} + k)t}} \tag{12.30}$$

Отметим, что случай $t=0$ приводит к $\delta = 1$, что соответствует импульсному освещению. Наоборот, случай $t \to \infty$ соответствует стационарному освещению, и мы получаем $\delta = \lambda_2/\lambda_1$ в полном согласии с формулой (12.24).

Поскольку $\lambda_2 < k_{-0} < \lambda_1$, то при увеличении времени освещения

происходит монотонное уменьшение величины δ в (12.30) от единицы при импульсном освещении, до величины λ_2/λ_1 соответствующей постоянному стационарному освещению.

На рис. 59 в качестве иллюстрации приведена зависимость коэффициента δ от времени освещения.

Существенно отметить, что значения показателей экспонент в выражении (12.30) уже были оценены по формуле (12.20). Таким образом, соотношение (12.20) оценивает, по существу, время установления в ФРЦ стационарного состояния. Исходя из формулы (12.20) можно записать следующую оценку времени

$$t \geq \frac{Б}{Mk_{-0}} \equiv \frac{1}{k_{-0}} \frac{Х_{им}}{1 - Х_{им}} \qquad (12.31)$$

12.5. Иллюстрация модели

Даже такая простая модель, как рассмотренная выше, качественно правильно описывает наблюдаемые в эксперименте температурные зависимости параметров кинетики темнового восстановления пигмента при импульсном и стационарном освещении.

В качестве примера на рис. 60 приведены расчетные величины вклада быстрого компонента темнового восстановления пигмента при импульсном и стационарном освещении, а также температурная зависимость констант скорости k_{-0} и времени быстрой компоненты ($1/\lambda_1$).

Расчет величин констант скорости был произведен следующим образом:

1. Температурную зависимость константы скорости k_{-0} аппроксимировали формулой

$$k_{-0} = 90e^{-T/156}.$$

2. Для константы скорости переноса электронов между первичным и вторичным хинонами m_1 использовали соотношение

$$m_1 = \frac{kT}{h} \chi e^{-\frac{\Delta E}{RT}},$$

где энергию активации ΔE полагали равной 11 ккал/моль ≡ 46 кДж/моль [Parson, 1969; Chamorovsky et al., 1976], а величину трансмиссионного коэффициента χ подбирали таким образом, чтобы при комнатной температуре значение m_1 составляло $3 \cdot 10^3$ $с^{-1}$.

3. Для константы скорости m_{-1} предполагали такую же температурную зависимость и считали, что при комнатной температуре она равна $2 \cdot 10^2$ $с^{-1}$.

4. Предполагали, что величина константы скорости k не зависит от температуры во всем рассматриваемом диапазоне температур.

Исходя из сопоставления рис. 58 и 60 можно сделать вывод о достаточно хорошем качественном соответствии наблюдаемой в эксперименте и теоретически рассчитанной температурной зависимости вкладов быстрого компонента в темновое восстановление пигмента при импульсном и стационарном освещении.

Приведенный нами расчет показывает, что при температурах $T > 240$ К основной вклад в быстрый компонент темнового восстановления вносит константа скорости m_1 переноса электронов между первичным и вторичным хинонами, а при более низких температурах основной вклад обусловлен константой скорости k_{-0}.

Заключение

Несмотря на качественное совпадение теоретических и экспериментальных результатов, имеется, однако, существенное отличие между экспериментом и теорией для области более низких температур. Наиболее сильное отличие состоит в том, что даже при очень низких температурах вклад быстрого компонента в восстановление фотоокисленного пигмента не равен единице и обычно составляет не более 70—90% [Лукашев и др., 1975; Чаморовский и др., 1977; Фабиан и др., 1980]. Согласно формуле (12.26) в этих условиях вообще не должно наблюдаться быстрого компонента при стационарном освещении. Это несоответствие приводит к необходимости рассмотрения при низкой температуре, как минимум, двух популяций реакционных центров с различным набором констант скорости в каждой из популяций [Чаморовский и др., 1977; Шинкарев, 1978; Венедиктов и др., 1980а; Петров и др., 1980, 1983]. Существенно также, что модель отражает только электронные переходы между переносчиками, и не учитывает конформационных изменений переносчиков ФРЦ при изменении их редокс-состояний.

Действительно, если образец охлаждать при непрерывном, освещении, то после выключения света не наблюдается полного восстановления фотоокисленного пигмента [Clayton, 1962; McElroy et al., 1974; Лукашев и др., 1976; Lukashev et al., 1976]. Если же образец охладить перед освещением, то после выключения света фотоокисленный пигмент восстанавливается практически полностью, т. е. стабилизация окисленной формы пигмента не происходит.

Анализ этих данных позволяет считать, что эффект стабилизации обусловлен не только необратимой потерей фотомобилизованного электрона первичным акцептором Q_I [McElroy et al., 1974], но и невозможностью возвращения электрона от Q_I на P при низкой температуре вследствие изменений конформации ФРЦ, происходящих под действием света при комнатной температуре [McElroy et al., 1974; Нокс и др., 1977]. Для реализации таких конформационных изменений существенно сохранение нативной структуры макромолекулярных компонентов ФРЦ. Так, после тепловой денатурации или глубокой дегидратации [Нокс и др., 1977] препаратов ха-

рактер темнового восстановления фотоокисленного пигмента в адаптированных к свету образцах уже не отличается от такового в образцах, адаптированных к темноте,— в обоих случаях наблюдается полное восстановление пигмента.

Исследование кинетики переноса электрона в препаратах ФРЦ, фиксированных глутаровым альдегидом, свидетельствует о существовании по крайней мере двух конформационных состояний — «темнового» и «светового», различающихся по величине констант скорости редокс-взаимодействия (Q_I с ближайшими партнерами (Q_{II}, P). Действительно, фиксация в темноте не приводит к существенному изменению кинетики фотоиндуцированных превращений P. В отличие от этого при фиксации во время освещения P теряет способность к фотореакциям, в ряде случаев практически полностью [Нокс и др., 1977].

Различие в действии глутарового альдегида на препараты, адаптированные к темноте и свету, также свидетельствует о конформационных изменениях белка РЦ под действием света. Сходное различие наблюдается и в мечении белков ФРЦ флуорескамином, взаимодействующего с первичными аминами, при освещении и в темноте [Bachofen, 1979]. Отмечены также отличия в буферной емкости препаратов ФРЦ, инкубируемых на свету и в темноте [Фабиан и др., 1981].

Очевидно, что макромолекулярные белковые компоненты этих комплексов не являются пассивными носителями простетических групп (P, Q_I, Q_{II}). Напротив, структура центров существенно динамическая. Это отчетливо проявляется при сопоставлении изменения характера их функциональной активности, например скорости переноса электрона между Q_I и Q_{II}, определенной по формуле (12.22), с параметрами введенных в препараты спиновых, а также мёссбауэровских зондов и меток — индикаторов внутримолекулярной подвижности — при изменении температуры и степени влажности [Берг и др., 1979а, б; Кононенко, 1980; Parak et al., 1980].

Торможение локальных движений происходит синбатно с ингибированием функциональной активности ФРЦ при переходе определенного критического порога температуры или влажности. Эти эксперименты свидетельствуют о наличии взаимообусловленной связи конформационной подвижности компонентов фотосинтетического аппарата и их специфической реакционной способности.

С учетом изложенных факторов была предложена модель работы ФРЦ при высоких редокс-потенциалах среды [Нокс и Др., 1977]. Согласно этой модели появление фотохимически разделенных электрических зарядов (P—Q_I) может индуцировать конформационный переход белка ФРЦ, сопровождающийся изменением активности Q_I. До осуществления такой перестройки Q_I может отдать электрон только P, но не Q_{II}. Эта перестройка невозможна, если конформационные движения белка заторможены в результате

понижения температуры, модификации бифункциональными сшивками или дегидратации. Если же такой переход завершен, то Q_I оказывается способным передать электрон Q_{II}. Инициированные фотохимическим актом конформационные переходы могут играть регуляторную роль, препятствуя рекомбинации первичных ионрадикальных продуктов (P, Q_I), прочно связанных с белком ФРЦ, и обеспечивая тем самым эффективное использование их в функциональных процессах. В связи с этим возникает необходимость построения общей кинетической схемы, в которой можно представить кинетику электронных переходов и соответствующих им конформационных изменений.

Были предложены две не исключающие друг друга кинетические модели переноса электронов в ФРЦ, учитывающие конформационные состояния. Сущность этих моделей состоит в предположении существования при низких температурах и влажностях, как минимум, двух популяций ФРЦ, отличающихся друг от друга своими конформационными состояниями и набором констант скорости. Согласно первой из них [Петров и др., 1980, 1983] исходно в темноте существуют две конформации ФРЦ, характеризующиеся своим набором констант скорости, не зависящим от температуры; причем понижение температуры приводит лишь к перераспределению ФРЦ между этими конформациями. Согласно второй [Венедиктов и др., 1980а] конформационные состояния формируются лишь в процессе функционирования ФРЦ. В пользу последней интерпретации свидетельствуют как простые физические соображения (ФРЦ, замороженные в темноте и на свету, отличаются зарядовым состоянием компонентов ФРЦ, что может привести к изменению расстояния между реактантами, поляризации среды и соответственно изменению величин констант скорости [Hales,1976; Шайтан, Рубин, 1981], так и данные Каллиса и др. [Callis et al., 1972], Арата и Парсона [Arata, Parson, 1981] об изменении объема, сопровождающее первичные электронтранспортные процессы в ФРЦ. По-видимому, в дальнейшем удастся создать простую и вместе с тем реалистическую схему функционирования ФРЦ во всей области температур и влажности с учетом различных конформационных состояний; причем вполне возможно, что изложенная выше простая кинетическая модель при относительно высоких температурах имеет отношение лишь к одному конформационному состоянию, в котором наиболее существенную роль играет температурная зависимость самих констант скорости переноса электронов, а не конформационные константы скорости.

Глава 13

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ВТОРИЧНОГО ХИНОНА В ПЕРВИЧНЫХ РЕАКЦИЯХ БАКТЕРИАЛЬНОГО ФОТОСИНТЕЗА

Было показано, что в фотосистеме II хлоропластов [Хангулов и др., 1974; Bouges-Boequet, 1973; Velthuys, Amesz, 1974; Pulles et al., 1976; Goldfeld et al., 1978; Wolman, 1978; Bowes, Crofts, 1980; Bowes et al., 1980] и хроматофорах фотосинтезирующих бактерий [Vermeglio, 1977; Wraight, 1977, 1979a, b; Barouch, Clayton, 1977; De Grooth et al., 1978; Bowyer et al., 1979; Верховский и др., 1980, 1981; Шинкарев и др., 1981] функционирует двухэлектронный затвор. Роль такого затвора играет вторичный хинон, входящий в состав ФРЦ, который в определенных условиях не отдает электрон в цепь до тех пор, пока не получит второй электрон и полностью не восстановится. При активации реакционных центров кратковременными вспышками света происходит образование семихинонной формы вторичного хинона на нечетные вспышки света и ее исчезновение на четные. Наиболее интенсивно такие двухтактные колебания концентрации семихинона изучались у фотосинтезирующих бактерий, где были обнаружены также двухтактные колебания в поглощении протонов [Barouch, Clayton, 1977; Wraight, 1979; Верховский и др., 1980], образовании трансмембранного электрического потенциала [De Grooth et al., 1978; Верховский и др., 1980], а также в скорости восстановления цитохрома b_{50} [Bowyer et al., 1979].

В данной главе рассмотрено кинетическое поведение вторичного хинона пурпурных бактерий (Rhodospirillum rubrum). Определена зависимость концентрации семихинонной формы хинона от номера вспышки, скорость стремления к стационарной концентрации (затухание колебаний) и другие характеристики. На основе кинетического анализа двойных колебаний концентрации семихинонной формы вторичного хинона оценена величина квантового выхода первичного фоторазделения зарядов в ФРЦ.

13.1. Стабилизация семихинонной формы вторичного хинона

В отсутствие экзогенных доноров электронов, когда исходно восстановленным в темноте является только пигмент (*P*) ФРЦ, кинетика редокс-превращений переносчиков электронов в хроматофорах Rs. rubrum может быть описана следующей схемой (см. гл. 12):

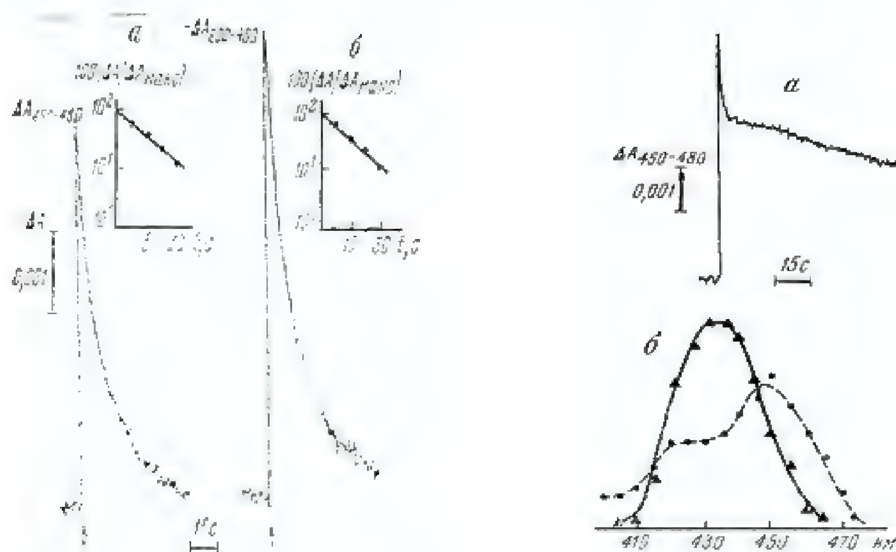
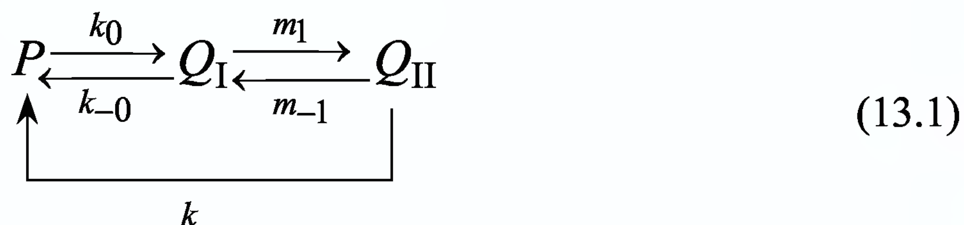


Рис. 61. Изменения поглощения в суспензии хроматофоров Rs. rubrum при 450 нм (P870 + Q_{II}) (а) и 600 нм (P870) (б), индуцированные вспышкой света

Среда инкубации: 100 мМ KC1, 20 мМ фосфатный буфер, pH 6,86. Оптическая плотность образца при 880 нм в 1 см кювете составляла 3,5 ед. Стрелками указан момент освещения хроматофоров вспышкой света длительностью 2 мс [Верховский и др., 1981]

Рис. 62. Изменения поглощения при 450 нм, индуцированные вспышкой света в суспензии хроматофоров Rs. rubrum в присутствии 10 мкМ ТМФД

а — кинетическая кривая этих изменений, б — спектр быстрой (треугольники) и медленной (кружки) фаз [Верховский и др., 1981]. Сплошная и пунктирная линии соответствуют спектрам P870 [Лоч, Хейлс, 1979] и убисемихинона [Bensasson, Land, 1973]. Остальные условия, как на рис. 61



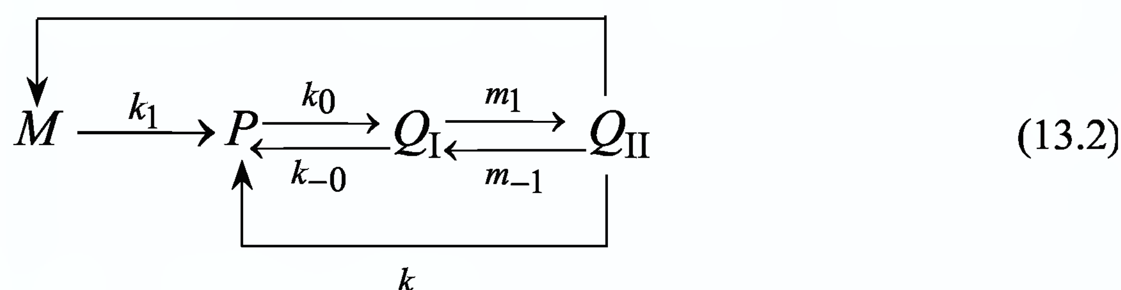
(13.1)

где Q_I и Q_{II} — соответственно первичный и вторичный хиноны ФРЦ.

В этих условиях темновая релаксация индуцированных вспышкой света изменений поглощения при 450 нм в суспензии хроматофоров Rs. rubrum описывается с хорошей точностью одной экспонентой с $\tau_{1/2}$~7,5 с (рис. 61, *а*).

При добавлении к хроматофорам экзогенного донора *N,N,N',N'*- тетраметил-*п*-фенилендиамина (ТМФД) в кинетике темновой релаксации появляются два компонента, один с более быстрой, а дру-

гой с более медленной кинетикой, чем в отсутствии донора (рис. 62, *а*). Дифференциальный спектр быстрого компонента имеет максимум при 430 нм, характерный для фотоокисленного пигмента (рис. 62,*б*), а его кинетика совпадает с таковой, измеренной при 600 нм, где поглощает только пигмент ФРЦ. Спектр медленного компонента совпадает со спектром поглощения убисемихинона (рис. 62,*б*). Отсюда следует, что быстрый компонент соответствует восстановлению фотоокисленного пигмента ФРЦ, а медленный отражает релаксацию образовавшейся после вспышки света семихинонной формы Q_{II} [Vermeglio, 1977; Wraight, 1977, 1979a, b; De Grooth et al., 1978], Таким образом, наблюдаемые в присутствии экзогенного донора фотоиндуцированные изменения при 450 нм обусловлены, с одной стороны, быстрым восстановлением P870 экзогенным донором, которое препятствует окислению семихинонной формы вторичного хинона пигментом, а с другой — медленным окислением семихинонной формы Q_{II} медиатором (ТМФД). Редокс-превращения переносчиков в присутствии редокс-медиатора могут быть описаны следующей кинетической схемой:



(13.2)

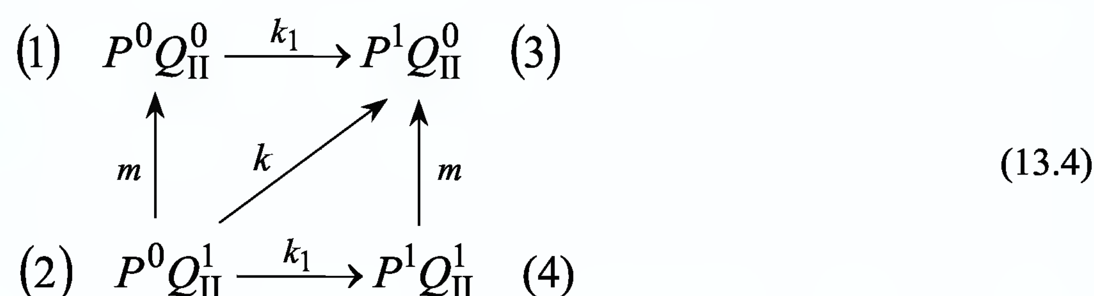
Здесь *M* - медиатор (ТМФД).

Рассмотрим процессы, которые разыгрываются в ФРЦ, после освещения его вспышкой света в присутствии медиатора. Поскольку через ~0,2 мс после вспышки света электрон переносится на Q_{II}, то процесс темновой релаксации пигмента ФРЦ, в пренебрежении обратимостью реакций между Q_I и Q_{II}, описы-



(13.3)

Граф состояний ФРЦ, соответствующий этой кинетической



(13.4)

Решая соответствующую этому графу систему линейных дифференциальных уравнений (см. гл. 7) с учетом начальных условий $p_2(0) = 1$, $p_1(0) = p_4(0) = 0$, получим

$$p_2(t) = e^{-(k+k_1+m)t},$$

$$p_1(t) = \frac{m}{m+k}\left(e^{-k_1 t} - e^{-(k+k_1+m)t}\right), \qquad (13.5)$$

$$p_4(t) = \frac{k_1}{k_1+k}\left(e^{-mt} - e^{-(k+k_1+m)t}\right)$$

хинонной формы Q_{II}^1 можем записать

$$P(P^0,t) = p_1 + p_2 = \frac{m}{m+k}e^{-k_1 t} + \frac{k}{m+k}e^{-(k+k_1+m)t},$$

$$P(Q_{II}^1,t) = p_2 + p_4 = \frac{k_1}{k_1+k}e^{-mt} + \frac{k}{k_1+k}e^{-(k+k_1+m)t}. \qquad (13.6)$$

Как следует из формулы (13.6), в присутствии редокс-медиатора кинетика темновой релаксации как пигмента, так и вторичного хинона имеет двухкомпонентный характер; причем медленная компонента обусловлена обменом электронами переносчиков со средой с константами k_1 и m соответственно, а быстрая компонента обусловлена как обменом электронами переносчиков со средой (k_1, m), так и циклическим потоком электронов (k).

Напомним, что фигурирующие в выражении (13.6) константы скорости k_1 и m псевдомономолекулярны и равны

$$k_1 = k_1^{'}[M^-], \; m = m^{'}[M^+]. \qquad (13.7)$$

В отсутствие медиатора, когда k_1 и m равны нулю, выражения (13.6), описывающие темповую релаксацию Р870 и Q_{II}, тождественно совпадают друг с другом, поскольку в этом случае пигмент восстанавливается только от вторичного хинона (рис. 61, *б*).

При увеличении концентрации медиатора, т. е. при увеличении констант скорости k_1 и m циклическим потоком электронов (константа скорости k) можно пренебречь. В этом случае кинетика темновой релаксации Р и Q_{II} описывается следующими выражениями:

$$P(P^0,t) \approx e^{-k_1 t} \equiv e^{-k_1^{'}[M^-]t}, \quad P(Q_{II}^1,t) \approx e^{-mt} \equiv e^{-m^{'}[M^+]t}. \qquad (13.8)$$

Таким образом, при достаточно большой концентрации медиатора кинетика темновой релаксации пигмента и вторичного хинона определяется **разными** константами скорости, зависящими от концентраций восстановленной (для пигмента) и окисленной (для хинона) форм медиатора. Для такого редокс-медиатора, как ТМФД, бимолекулярная константа скорости $k_1^{'}$ практически на два порядка больше, чем *m'*. Кроме того, в восстановительных условиях ($E_н \leq$ 250 мВ) концентрация восстановленной формы медиатора больше, чем окисленной. Поэтому при достаточно большой концентрации медиатора кинетически возможна такая ситуация, когда релаксация

пигмента ФРЦ более чем на порядок быстрее, чем темновая релаксация вторичного хинона. Это позволяет раздельно наблюдать редокс-превращения Q_{II} и *P*. Согласно данным, представленным на рис. 63, выражение для вклада медленного компонента с показателем (*-mt*) в темновое окисление семихинона Q_{II} увеличивается при увеличения концентрации окисленной формы медиатора и имеет вид аналогичный уравнению Михаэлиса [см. также (13.6)].

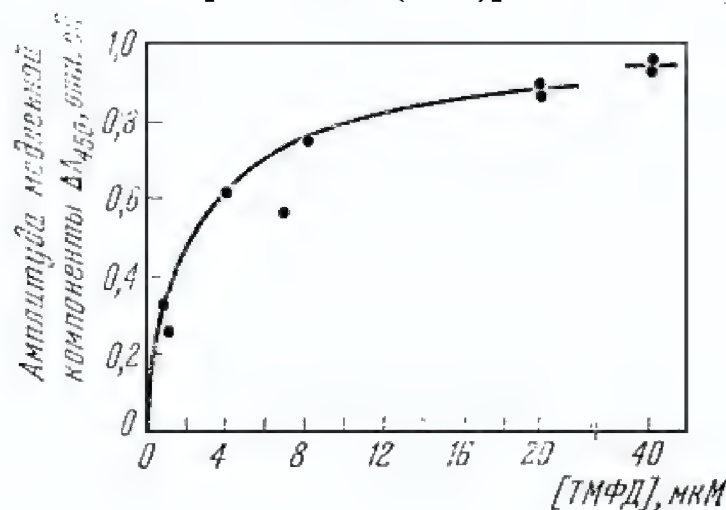


Рис. 63. Зависимость от концентрации ТМФД амплитуды медленной компоненты изменений поглощения при 450 нм (см. рис. 62), индуцированных вспышкой света в суспензии хроматофоров Rs. rubrum

Условия, как на рис. 61. Редокс-потенциал среды 130—230 мВ

Как следует из рис. 63, для восстановления половины всех окисленных вспышкой света ФРЦ достаточно всего двух микромолей ТМФД. На самом деле, эти концентрации еще меньше, поскольку в эксперименте при увеличении концентрации ТМФД происходит смещение редокс-потенциала среды в восстановительную область и, следовательно, в области низких концентраций ТМФД значительная его часть находится в окисленном состоянии.

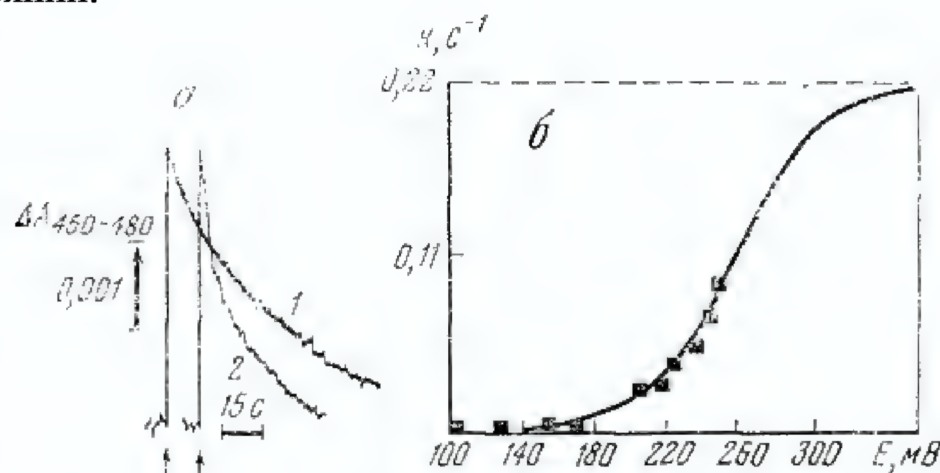


Рис. 64. Зависимость характерного времени темнового окисления семихинонной формы вторичного хинонного акцептора ФРЦ от редокс-потенциала среды *(E)*

а — изменения поглощения при 450 нм, индуцированные вспышкой света; E=210 мВ (1) и 250 мВ (2); *б* — зависимость величины константы скорости окисления семихинона от редокс-потенциала среды, через экспериментальные точки проведена одноэлектронная кривая Нернста, соответствующая среднеточечному потенциалу (260 мВ) ТМФД (40 мкМ). Остальные условия, как на рис. 61 [Верховский и др., 1981]

Оцененная исходя из данных рис. 63 бимолекулярная константа скорости переноса электронов от ТМФД к пигменту равна ~ 10^2 $мМ^{-1}с^{-1}$.

Окисление в темноте семихинонной формы Q_{II}, образовавшейся после единичной вспышки света, зависит от заданного в темноте редокс-потенциала среды (рис. 64, а). Зависимость характерного времени $\tau_{1/2}$ темнового окисления семихинонной формы Q_{II} от редокс-потенциала среды можно объяснить ее окислением присутствующим в среде медиатором. Поскольку концентрация медиатора (40 мкМ), использовавшаяся в экспериментах, значительно превышала концентрацию реакционных центров (<0,5 мкМ), то в рассматриваемом диапазоне редокс-потенциалов среды концентрацию окисленного медиатора можно считать постоянной. Это позволяет объяснить зависимость времени темнового окисления семихинонной формы Q_{II} от редокс-потенциала среды (*E*) зависимостью концентрации окисленной формы медиатора от *E*. В силу уравнения Нернста

$$E = E^0 + \frac{RT}{F}\ln\frac{[M^+]}{[M^-]}$$

для псевдомономолекулярной константы скорости темнового окисления семихинонной формы Q_{II} можно написать

$$\tau_{1/2}^{-1} \sim k \equiv k'[M^+] = k'M \Big/ \left(1 + \exp\left(\frac{E^0 - E}{RT}F\right)\right), \qquad (13.10)$$

где E^0 — нормальный окислительно-восстановительный потенциал медиатора, *R* — газовая постоянная, *T* — абсолютная температура, *F* — число Фарадея, $[M^+]$, $[M^-]$ — концентрации окисленной и восстановленной формы ТМФД соответственно; $M = [M^+] + [M^-]$.

На рис. 64, *б* показана зависимость константы скорости окисления семихинонной формы Q_{II} от редокс-потенциала среды. Через экспериментальные точки проведена одноэлектронная кривая титрования Нернста со среднеточечным потенциалом, соответствующим ТМФД (E^0 = 260 мВ). Амплитуду теоретической кривой подбирали с целью максимального приближения к экспериментальным точкам.

Выражение (13.10) можно использовать для оценки бимолекулярной константы скорости окисления медиатором семихинонной формы $p_и$. Она оказалась равной $k' \approx 5{,}5$ $мМ^{-1}с^{-1}$.

Таким образом, подбором медиатора, его концентрации и редокс-потенциала среды можно стабилизировать Q_{II}^{Γ} на время, значительно превышающее время темновой релаксации пигмента.

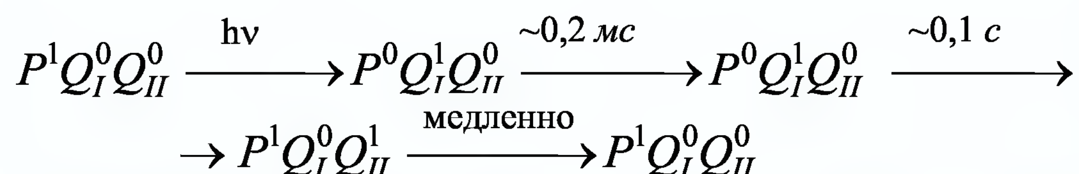
13.2. Кинетическая модель двухтактных колебаний концентрации семихинона

Если через некоторый интервал после первой вспышки света дать вторую вспышку, то на Q_{II} будет перенесен второй электрон, в результате чего Q_{II} из семихинонной формы перейдет в полностью восстановленную форму, которая не поглощает свет в исследуемом спектральном диапазоне. На рис. 65 видно резкое уменьшение поглощения при 450 нм после второй вспышки света. Если после этого дать третью вспышку света, то опять образуется семихинонная форма Q_{II}, которая поглощает при 450 нм и т. д. Видно, что для исследуемого образца наблюдаются по крайней мере шесть тактов увеличения и уменьшения оптической плотности.

Наблюдаемые изменения поглощения могут быть объяснены исходя из кинетической схемы (13.2).

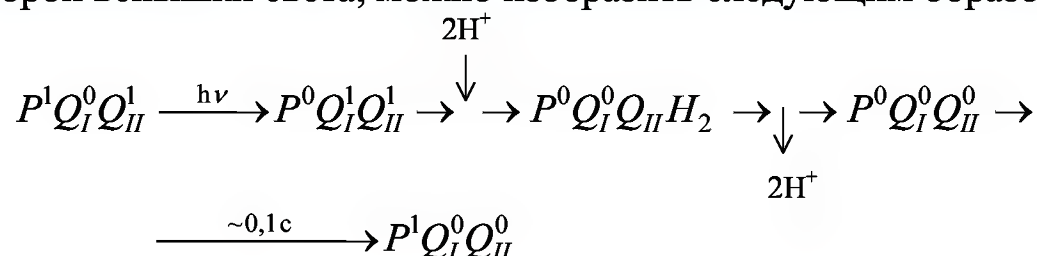
После темновой адаптации P находится в восстановленном состоянии, а Q_I и Q_{II} — в окисленном.

В результате активации реакционного центра первой вспышкой света электрон от P, за время ~200 пс, попадает сначала на Q_I а затем, за ~0,2 мс,—на Q_{II}, в результате чего образуется семихинонная форма Q_{II}, поглощающая при 450 нм. Окисленный пигмент достаточно быстро, с константой скорости ~10^2 мМ$^{-1}$с$^{-1}$, восстанавливается от медиатора и, следовательно, уже не может окислять образовавшуюся на свету семихинонную форму Q_{II}, которая относительно медленно, с константой скорости ~5 мМ$^{-1}$с$^{-1}$, окисляется ТМФД. Таким образом, после первой вспышки света реакционный центр оказывается в медленно релаксирующем состоянии $P^1Q_I^0Q_{II}^1$. Рассмотренные процессы можно изобразить



$$P^1Q_I^0Q_{II}^0 \xrightarrow{h\nu} P^0Q_I^1Q_{II}^0 \xrightarrow{\sim 0{,}2\ мс} P^0Q_I^1Q_{II}^0 \xrightarrow{\sim 0{,}1\ c} \rightarrow P^1Q_I^0Q_{II}^1 \xrightarrow{медленно} P^1Q_I^0Q_{II}^0$$

После активации ФРЦ второй вспышкой происходит перенос второго электрона в акцепторную часть, что приводит к образованию полностью восстановленной формы Q_{II}, не поглощающей при 450 нм. Восстановленный Q_{II} быстро окисляется пулом хинонов и (или) ТМФД. Процессы, происходящие после второй вспышки света, можно изобразить следующим образом:



$$P^1Q_I^0Q_{II}^1 \xrightarrow{h\nu} P^0Q_I^1Q_{II}^1 \rightarrow \overset{2H^+}{\downarrow} \rightarrow P^0Q_I^0Q_{II}H_2 \rightarrow \underset{2H^+}{\downarrow} \rightarrow P^0Q_I^0Q_{II}^0 \rightarrow \xrightarrow{\sim 0{,}1c} P^1Q_I^0Q_{II}^0$$

После третьей вспышки света образуется семихинонная форма Q_{II} и т. д.

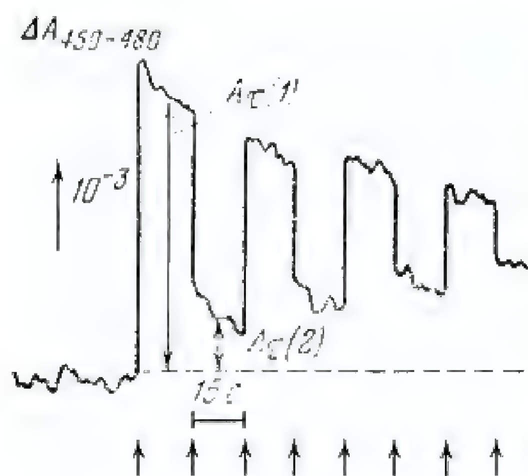


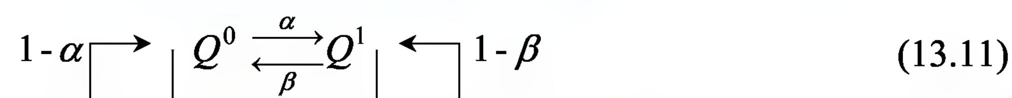
Рис. 65. Изменения поглощения семихинонной формы вторичного хинонного акцептора в адаптированном к темноте образце хроматофоров Rs. rubrum под действием последовательных вспышек света [Шинкарев и др 1981]

Все процессы, кроме окисления семихинона Q_{II}, происходят за время меньшее, чем время разрешения прибора (0,5 с), поэтому для объяснения наблюдаемых изменений поглощения при 450 нм достаточно ограничиться рассмотрением только редокс-превращений вторичного хинона. Для этого необходимо указать, во-первых, как под действием отдельной вспышки света перераспределяются заряды на переносчиках, а во-вторых, как происходит темновое окисление семихинона вслед за очередной вспышкой света.

Ниже, для упрощения обозначений, вторичный хинон будем обозначать как Q.

Обозначим через α и β вероятность переноса электрона после вспышки света от пигмента на вторичный хинон при условии, что до вспышки он находился в полностью окисленной (Q°) и семихинонной (Q^1) формах соответственно. При малой длительности насыщающей вспышки света величины α и β можно отождествить с квантовыми выходами переноса электронов от P870 на Q^0 и Q^1 соответственно.

Будем считать, что редокс-потенциал среды выше, чем среднеточечный потенциал хинонов, образующих пул. Поскольку в этих условиях время окисления полностью восстановленной формы Q меньше времени разрешения прибора, то ее можно не учитывать. Поэтому в дальнейшем мы ограничимся рассмотрением следующей простейшей схемы переходов хинона под



$$1-\alpha \circlearrowright \; Q^0 \underset{\beta}{\overset{\alpha}{\rightleftarrows}} Q^1 \; \circlearrowleft 1-\beta \qquad (13.11)$$

Если до вспышки хинон находился в окисленном состоянии Q^0, то после вспышки он с вероятностью α перейдет в полувосстановленное состояние Q^1, а с вероятностью 1—α останется в исходном состоянии. Аналогично этому, если до вспышки хинон находился в полувосстановленном состоянии Q^1, то после нее он с вероятностью β перейдет в полностью окисленное состояние Q^0, а с вероятностью 1—β останется в исходном состоянии. Таким образом, схема (13.11)

описывает дискретные переходы между состояниями вторичного хинона, которые имеют место только в момент вспышки света.

Процесс темновой релаксации семихинона к равновесному состоянию происходит после вспышки по схеме:



$$Q^0 \xleftarrow{m} Q^1, \tag{13.12}$$

т. е. семихинон окисляется с константой скорости m, которую можно считать пропорциональной концентрации окисленной формы медиатора ($m=m'[M^+]$). Будем считать вспышки света мгновенными. Обозначим через θ время между двумя последовательными вспышками, а через τ — время, прошедшее после последней вспышки (0≤τ≤θ). Тогда для любого момента времени t можем написать равенство $t=n\theta+\tau$, где n — число вспышек света. Обозначим также через $p(t)=p(n\theta+\tau)=p_\tau(n)$ и $q(t)=1-p(t)$ вероятности того, что в момент времени t вторичный хинон находится в семихинонной (Q^1) и окисленной (Q^0) формах соответственно.

Для того чтобы найти выражение, описывающее изменение семихинонной формы Q под действием серии вспышек, введем вероятности α_1 и β_1 того, что за время θ после вспышки, Q перейдет из окисленной формы в семихинонную и из семихинонной формы в окисленную соответственно. Величины α_1 и β_1 учитывают переходы Q как под действием вспышки света, так и последующую темновую релаксацию в течение времени θ. Заметим, что величины α_1 и β_1 совпадают с введенными ранее величинами α и β, если отсутствует темновое окисление вторичного хинона.

По формуле полных вероятностей для величины p_θ можно записать следующее выражение:

$$\begin{aligned} p_\theta(n) &= q_\theta(n-1)\alpha_1 + p_\theta(n-1)(1-\beta_1) = \\ &= [1-p_\theta(n-1)]\alpha_1 + p_\theta(n-1)(1-\beta_1). \end{aligned} \tag{13.13}$$

Действительно, вероятность того, что через время θ после n-й вспышки света Q, находится в семихинонной форме, складывается из того, что перед n-й вспышкой света он находился в окисленной форме, умноженной на вероятность перехода в семихинонную форму и вероятности того, что перед n-й вспышкой света он находился в семихинонной форме, умноженной на вероятность остаться в ней.

Выражение (13.13) связывает между собой вероятности семихинона для двух моментов времени, отделенных друг от друга промежутком θ. Проитерировав это выражение вида $x_n=a+bx_{n-1}$, получим $x_n = a+bx_{n-1} = a+b(a+x_{n-2})=\ldots=a+ba+b^2a+\ldots+b^{n-1}a+b^nx_0 = \dfrac{a(1-b^n)}{1-b}+b^nx_0$.

Поскольку после длительной темновой адаптации Q_{II} полностью окислен, то $p_\theta(0)=0$. Следовательно, для вероятности того, что через время θ после n-й вспышки света вторичный хинон будет в

нонной форме, получим следующее выражение:

$$p_\theta(n)=\alpha_1\frac{1-(1-\alpha_1-\beta_1)^n}{\alpha_1+\beta_1}. \quad (13.14)$$

Как можно увидеть непосредственно из схемы (13.12), $p_\tau(n)=$ $=e^{-m\tau}p_0(n)$, поэтому для вероятности $p_\tau(n)$ того, что через время τ после n-й вспышки света вторичный хинон находится в семихинонной форме, можно написать [Шинкарев и др., 1981]

$$p_\tau(n)=e^{m(\theta-\tau)}\frac{\alpha_1}{\alpha_1+\beta_1}\left(1-(1-\alpha_1-\beta_1)^n\right) \quad (13.15)$$

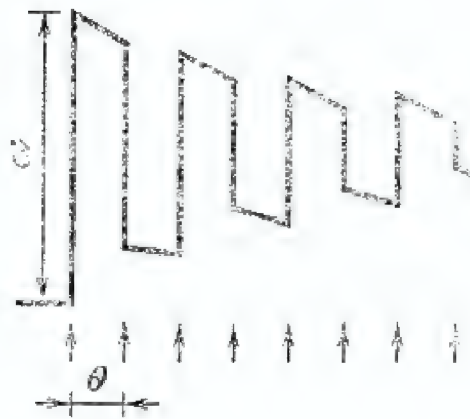


Рис. 66. Теоретическая кривая изменений концентрации семихинона, построенная исходя из соотношения (13.18) при $\alpha+\beta=1{,}82$; $e^{m\theta}=1{,}12$

В этой формуле первый сомножитель отражает темновое окисление, а второй — двухтактные колебания семихинонной формы Q. Чтобы связать параметры α_1 и β_1 с параметрами α и β, выведем соотношение (13.15) другим путем. Для величины $p_0(n)$ можно аналогично выражением (13.13) записать $p_0(n)=[1-p_\theta(n-1)]\alpha+p_\theta(n-1)(1-\beta)$. Поскольку $p_\theta(n)$ = $p_0(n)e^{-m\theta}$, то имеем следующее равенство:

$$p_\theta(n)=e^{-m\theta}\{[1-p_\theta(n-1)]\alpha+p_\theta(n-1)(1-\beta)\}. \quad (13.16)$$

Сравнивая коэффициенты в выражениях (13.13) и (13.16), можно найти, что величины α_1 и β_1 следующим образом связаны с величинами α и β:

$$\alpha_1=\alpha e^{-m\theta},\quad \beta_1=1-(1-\beta)e^{-m\theta}. \quad (13.17)$$

Отличие величин α_1 и β_1 от α и β обусловлено тем, что через время θ часть семихинонной формы вторичного хинона уже успела окислиться. В частности, если отсутствует темновое окисление семихинона P, то $\alpha_1=\alpha$ и $\beta_1=\beta$.

Таким образом, превращения семихинона, индуцированные серией последовательных вспышек света в предварительно адаптированных к темноте ФРЦ, могут быть описаны следующим выражением:

$$p(t)=p_\tau(n)=\frac{\alpha e^{-m\tau}}{\alpha_1+\beta_1}\left(1-(1-\alpha_1-\beta_1)^n\right) \quad (13.18)$$

Это соотношение является основным для всего последующего изложения.

В формуле (13.18) первый сомножитель отражает темновое окисление, а второй — двухтактные колебания семихинона. На рис. 66 для примера представлен график кривой, описываемой уравнением (13.18) для $\alpha_1 + \beta_1$ ==1,82; $e^{m\theta}$ = 1,12.

13.3. Характеристика двухтактных колебаний

Простейшие свойства двойных колебаний

Как следует из формулы (13.18), кинетика изменения концентрации семихинона определяется не величинами α_1 и β_1 по отдельности, а их суммой.

Концентрация семихинона зависит от времени τ, прошедшего после очередной вспышки света. Далее везде полагается, что величина τ постоянна, хотя и произвольна ($0 \le \tau \le \theta$).

После первой вспышки света (n=1), согласно формуле (13.18), концентрация семихинона экспоненциально уменьшается во времени:

$$p_\tau(1) = \alpha e^{-m\tau}, \tag{13.19}$$

т. е. амплитуда изменений поглощения при 450 нм в ответ на первую вспышку света характеризует эффективность переноса электрона от пигмента на вторичный хинон.

После второй вспышки света (n=2) вероятность семихинона равна:

$$p_\tau(2) = \alpha e^{-m\tau}(2 - \alpha_1 - \beta_1). \tag{13.20}$$

Разделив это уравнение на равенство (13.19), получим

$$p_\tau(2) / p_\tau(1) = 2 - \alpha_1 - \beta_1 . \tag{13.21}$$

Отношение амплитуд сигналов, наблюдаемых соответственно на вторую и первую вспышки света, позволяет рассчитать величину $\alpha_1 + \beta_1$ в абсолютных единицах:

$$\alpha_1 + \beta_1 = 2 - p_\tau(2) / p_\tau(1) = 2 - A_\tau(2) / A_\tau(1), \tag{13.22}$$

где $A_\tau(1)$ и $A_\tau(2)$—соответствующие амплитуды изменений поглощения при 450 нм, показанных на рис. 65.

Проанализируем различные характеристики двухтактных колебаний.

Параметры затухания

Рассмотрим концентрацию семихинона спустя время τ после нечетных (четных) вспышек света. Концентрация семихинона в рассматриваемые моменты времени монотонно уменьшается (увеличивается) с увеличением числа вспышек и стремится с точностью до множителя к предельному значению

$$p_\tau(\infty) = \alpha\ e^{-m\tau} / (\alpha_1 + \beta_1), \tag{13.23}$$

зависящему от величины τ. Как будет показано ниже, стремление к этому предельному значению имеет экспоненциальный характер, что позволяет охарактеризовать затухание рассматриваемых двухтактных колебаний значением показателя этой экспоненты.

Обозначим через $\Delta_\tau^{n,s}$ модуль разности концентраций семихинона в моменты времени, отстоящие друг от друга на величину $s\theta$, s = 0, 1, ..., кратную времени между двумя последовательными вспышками (рис. 67). Тогда, используя выражение (13.18), получим

$$\Delta_\tau^{n,s} = \left| p_\tau(n+s) - p_\tau(n+s) \right| = p_\tau(s)(\alpha_1 + \beta_1 - 1)^n = \\ = p_\tau(s) e^{n \ln(\alpha_1 + \beta_1 - 1)}. \qquad (13.24)$$

Ясно, что в формуле (13.24) учитываются лишь значения семихинона, определяемые через время τ после соответствующих вспышек.

При различных n и s формула охватывает все наиболее интересные случаи. Действительно, при s =1 она описывает поведение раз-

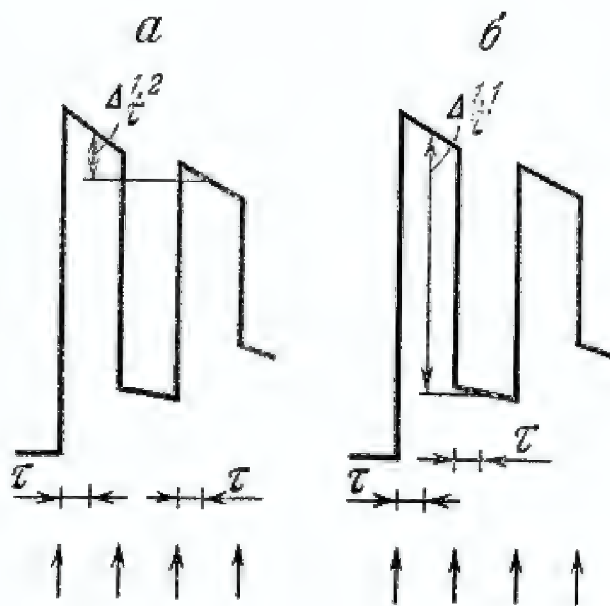


Рис. 67. Схемы определения величин Δ_τ для n=1, s = 2 (*а*) и n=1, s=1 (*б*)

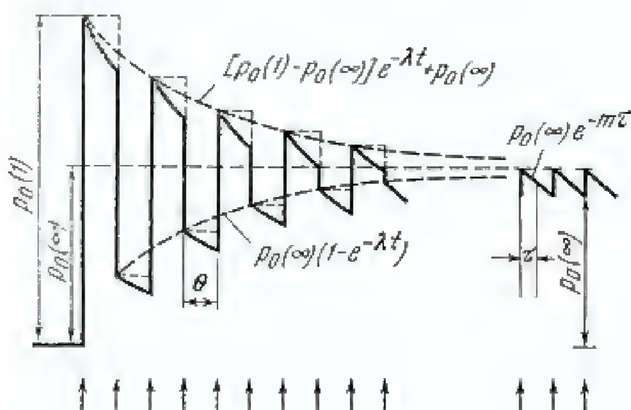


Рис. 68. Теоретическая кривая, описывающая изменение концентрации семихинона вторичного хинонного акцептора ФРЦ в зависимости от номера вспышки, построенная исходя из соотношения (13.18), при α + β ==1,8; $e^{m\theta}$ = 1,2

ности двух соседних амплитуд, при $s = 2$ — поведение разности двух амплитуд, индуцированных соответственно либо четными ($n=2k$, $k = 0, 1, 2, ...$), либо только нечетными $n=2k+1$, $k = 0, 1, 2, ...$) вспышками света. Если в этой формуле s устремить к бесконечности, то она будет описывать стремление концентрации семихинона к предельному значению. В частности, при $s \to\infty$, а $n = 2k$, $2k+1$ эта формула описывает стремление концентрации семихинона к предельному значению под действием соответственно четных и нечетных вспышек света (рис. 68).

Если рассматривать закон изменения (13.24) не в моменты, кратные θ ($t = n\theta$), а в произвольный момент времени t, то его можно записать в следующем виде:

$$\Delta_\tau^{n,s} = p_\tau(s)e^{\left[\frac{n\theta}{\theta}\ln(\alpha_1+\beta_1-1)\right]} = p_\tau(s)e^{\frac{t\ln(\alpha_1+\beta_1-1)}{\theta}} \equiv p_\tau(s)e^{-\lambda t}. \qquad (13.25)$$

Таким образом, значения концентрации семихинона через время τ после четных и нечетных вспышек света описываются экспонентой, предельное значение которой дается выражением (13.23). Величина показателя экспоненты $\lambda = [t\ln(\alpha_1+\beta_1-1)]/\theta$ характеризует скорость приближения концентрации семихинонной формы Q_{II} к предельному значению (рис. 68, пунктир) и может быть использована для определения величины $\alpha_1 + \beta_1$ — суммарной эффективности переноса электронов.

Типы кинетических кривых

В уравнение (13.18), описывающее изменение концентрации семихинона Q_{II} под действием последовательных вспышек света, входит несколько параметров — α, β, m, θ, τ. Вместе с тем качественная картина изменения семихинона зависит лишь от двух параметров, а именно от величин m и $\alpha_1 + \beta_1$. На рис. 69 представлены все качественно различные типы изменения концентрации семихинона, которые могут возникнуть в рассматриваемой системе.

Рассмотрим сначала случай, когда время темновой релаксации семихинона настолько больше времени между двумя последовательными вспышками света, что темновым окислением семихинона можно пренебречь и считать, что $m = 0$ (верхняя часть рис. 69). В этом случае все изменения концентрации семихинона связаны лишь с перераспределением электронов под действием вспышек света. Согласно формуле (13.18), при $m=0$ характер изменений концентрации семихинона определяется лишь величиной $\alpha + \beta$. Рассмотрим все возможные типы таких изменений.

1. Если величина $\alpha + \beta$ равна 2, то выражение (13.18) переходит в выражение $p(n) = 0{,}5\ (1 + (-1)^n)$. В этом случае будут наблюдаться

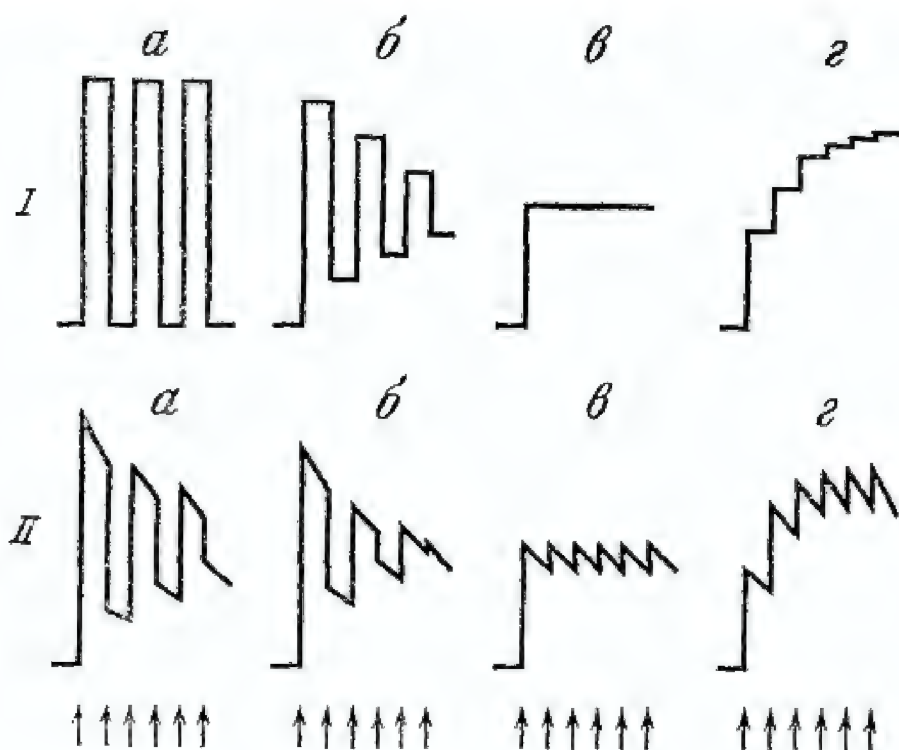


Рис. 69. Теоретические кривые возможных типов изменений концентрации семихинона в зависимости от номера вспышки в отсутствие (*I*) и при наличии (*II*) темнового окисления семихинона

I — $e^{m\theta}=1$; *II*—$e^{m\theta}=1{,}25$; α + β равно 2 (*а*), 1,8 (*б*), 1 (*в*) и 0,5 (*г*) [Шинкарев и др., 1981]

незатухающие колебания концентрации семихинона, причем на каждую нечетную вспышку света во всех реакционных центрах семихинон будет образовываться, а на каждую четную вспышку — исчезать (рис. 69, *I, а)*.

2. Если 1<α+β<2, то будут наблюдаться затухающие колебания с попеременным увеличением и уменьшением концентрации семихинона (рис. 69, *I,б)*. Предельный уровень этих колебаний определяется формулой (13.23), в которой *m*=0. Стремление семихинона к предельной концентрации под действием четных и нечетных вспышек света экспоненциальное — с одинаковым показателем (см. рис. 68).

3. Если α + β =1, то концентрация семихинонной формы Q_{II} будет изменяться только в ответ на первую вспышку света. В ответ на последующие вспышки света видимых изменений в концентрации семихинона не будет (рис. 69, *I*, *в*).

4. Если 0<α + β <1, то, как следует из уравнения (13.18), в рассматриваемом случае колебаний концентрации семихинона не будет.

Вместо этого на каждую вспышку света будет образовываться семихинон (рис. 69, *I*, *г*). Эти изменения могут быть описаны следующей формулой:

$$p(n)=\frac{\alpha}{\alpha+\beta}\left(1-e^{n\ln\left(1-\alpha_1-\beta_1\right)}\right), \qquad (13.26)$$

которая при α + β <<1 может быть переписана в виде

$$p(n)=\frac{\alpha}{\alpha+\beta}\left(1-e^{n(\alpha+\beta)}\right). \qquad (13.27)$$

Перейдем теперь к случаю, когда время темповой релаксации семихинона сравнимо со временем между двумя последовательными вспышками света (*m*≠0) или больше его (нижняя часть рис. 69). При

этом роль $\alpha + \beta$ играет уже величина $\alpha_1 + \beta_1$, которая и определяет тип изменений концентрации семихинона в зависимости от номера вспышки.

1'. Случай $\alpha_1 + \beta_1 = 2$ уже был рассмотрен и соответствует незатухающим колебаниям семихинона. Действительно, если $\alpha_1 + \beta_1 = 2$, то из определения величин α_1 и β_1 следует, что $\alpha=1$, $\beta=1$, $m = 0$.

2'. Если вспышки света даются через время θ, сравнимое со временем темновой релаксации ($e^{-m\theta} < 1$), то к моменту следующей вспышки часть семихинона успевает исчезнуть, и, следовательно, даже если вероятности переходов α и β равны единице, $\alpha_1 + \beta_1$ будет меньше 2 и колебания все равно будут затухающими. Таким образом, основное отличие данного случая от того, в котором отсутствует темновая релаксация семихинона, состоит в том, что на процесс перераспределения электронов, индуцированный вспышкой света, накладывается темновое окисление семихинона, что делает невозможными незатухающие колебания (рис. 69, *II*, *а, б*).

3'. Если $\alpha_1 + \beta_1 = 1$, то изменения концентрации семихинона уже не будут зависеть от номера вспышки, а будут представлять собой «всплески» одинаковой формы (рис. 69, *II*, *в*).

4'. Если $\alpha_1 + \beta_1 < 1$, то на каждую вспышку будет образовываться какое-то количество семихинонной формы Q_{II}, которое затем экспоненциально исчезает (рис. 69, *II*, *г*). Изменения семихинонной формы Q_{II} могут быть описаны следующим выражением:

$$p_\tau(n) = \frac{\alpha e^{-m\tau}}{\alpha_1 + \beta_1}\left(1 - e^{n\ln(1-\alpha_1-\beta_1)}\right), \qquad (13.28)$$

которое при $\alpha_1 + \beta_1 < 1$ сводится к

$$p_\tau(n) \cong \frac{\alpha e^{-m\tau}}{\alpha_1 + \beta_1}\left(1 - e^{n(\alpha_1+\beta_1)}\right). \qquad (13.29)$$

13.4. Методы определения $\alpha + \beta$

Как показано выше, величина предельного уровня и стремление к нему двухтактных колебаний, а также тип изменений концентрации семихинона в зависимости от номера вспышки света определяются только величиной суммарной эффективности переноса электронов $\alpha_1 + \beta_1$, а не величинами α_1 и β_1 в отдельности. Ниже рассмотрен ряд критериев, позволяющих в эксперименте определить величину $\alpha_1 + \beta_1$, что важно для оценки величины $\alpha + \beta$, связанной с квантовым выходом первичного разделения зарядов в фотосинтетическом реакционном центре.

Простейшие критерии. Из соотношения (13.18) можно получить ряд выражений, которые в той или иной степени могут быть полезными для определения величины суммарной эффективности. Наиболее простые из них связывают между собой концентрации се-

михинона лишь в двух точках. К таким выражениям относятся соотношение (13.22) и уравнение

$$\alpha_1 + \beta_1 = p_\tau(1)/p_\tau(\infty). \tag{13.30}$$

Более точными, однако, являются критерии, позволяющие рассчитывать величину $\alpha_1 + \beta_1$ из значений концентраций семихинона при нескольких n. К такого рода критериям можно отнести следующие, легко получаемые из выражений (13.18) или (13.24).

$$\alpha_1 + \beta_1 - 1 = \sqrt[n]{\frac{p_\tau(n+s) - p_\tau(n)}{p_\tau(s)}}. \tag{13.31}$$

$$\alpha_1 + \beta_1 - 1 = \frac{p_\tau(n+2) - p_\tau(n+1)}{p_\tau(n) - p_\tau(n+1)}. \tag{13.32}$$

Заметим, что выражение (13.31) удобнее всего использовать при s=1 и 2. Кроме того, в формулах (13.30) — (13.32) удобно полагать τ=0 или θ.

Усредняя значения $\alpha_1 + \beta_1 - 1$, которые получаются из выражений (13.31) и (13.32) при различных n, можно существенно уменьшить ошибку в определении суммарной эффективности переноса электронов.

Ниже рассмотрен критерий, усреднение в котором осуществляется графически.

Основной критерий. Как показано выше [см. выражение (13.24)], зависимость от номера вспышки модуля разности амплитуд семихинона, отстоящих друг от друга на величины, кратные θ, имеет экспоненциальный характер с показателем

$$\lambda = -\frac{\ln(\alpha_1 + \beta_1 - 1)}{\theta} = m - \frac{\ln(\alpha + \beta - 1)}{\theta}. \tag{13.33}$$

Откладывая разность Δ_τ [см. выражение (13.24)] от времени в полулогарифмических координатах, можно найти этот показатель, а следовательно, и $e^{-\lambda\theta}$. Разрешив уравнение (13.33) относительно $\alpha+\beta$, получим

$$\alpha + \beta = 1 + e^{-\lambda\theta} e^{m\theta}. \tag{13.34}$$

В это выражение кроме $e^{-\lambda\theta}$ входит также величина $e^{-m\theta}$, которую можно оценить исходя из кинетики темнового окисления семихинона. Удобно строить зависимость (13.25) при небольших значениях s, поскольку в этом случае уменьшается ошибка, связанная со смещением нулевой линии прибора. На рис. 70 в полулогарифмических координатах показаны построенные на основании экспериментальной кривой, представленной на рис. 65, разности $\Delta_\tau^{n,s}$ амплитуд семихинона, смещенных друг относительно друга на величину θ, при τ=0 и τ=θ. Из рисунка видно, что экспериментальные точки могут быть аппроксимированы одним, и тем же экспоненциальным законом, для которого $e^{-\lambda\theta} \cong 0{,}82$. Учитывая, что согласно данным,

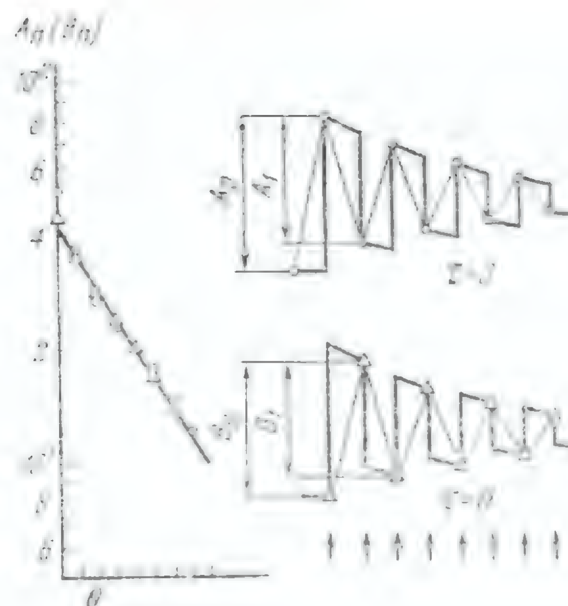


Рис. 70. Зависимость модуля разности концентрации семихинона вторичного хинонного акцептора между соседними вспышками от номера вспышки

Справа схематически показаны точки, используемые при построении графика, где $A_i = \Delta_0^{i,1}$, а $B_i = \Delta_\theta^{i,1}$ [Шинкарев и др., 1981]

представленным на рис. 65, величина $e^{m\theta}$, усредненная по первым шести вспышкам, составляет ~1,2, по формуле (13.34) определяем, что величина $\alpha+\beta \approx 1{,}92$. Теоретическая кривая, построенная из найденных параметров, представлена на рис. 65, *б*.

Значения $\alpha+\beta$ для различных ФРЦ. Предложенная модель может быть использована для анализа экспериментальных данных, полученных для ФРЦ фотосинтезирующих бактерий, а также ФС II высших растений. В табл. 10 представлены величины эффективности переноса электронов $\alpha+\beta$, рассчитанные из литературных данных по критерию (13.34), учитывающему все вспышки. При расчете использовали экспериментальные точки, соответствующие моментам освещения препаратов вспышкой (τ=0). Напомним, что величина α (β) равна вероятности того, что после первой (второй) вспышки света электрон перейдет от P870 на Q_{II}. При насыщающей интенсивности вспышки величины α и β совпадают с соответствующими значениями квантовых выходов.

Таблица 10. Величина суммарной эффективности переноса электронов для различных препаратов

Препарат	$\alpha + \beta$	Литературный источник
Хроматофоры Rps. sphaeroides	1,8	Baroach, Clayton, 1977
ФРЦ Rps. sphaeroides, R-26	1,93	Vermeglio, 1977
ФРЦ Rps. sphaeroides, R-26	1,83	Wraight, 1977
Клетки Rs. rubrum	1,80	DeGrooth et al., 1978
Хлоропласты	1,81	Velthuys, Amesz, 1974
»	1,77	Wollman, 1978

Из анализа таблицы можно сделать вывод о том, что величины суммарной эффективности переноса электрона, полученные разными авторами, близки между собой, несмотря на различные препараты, а также виды бактерий, использованные ими в экспериментах. Средняя величина суммы квантовых выходов на две вспышки составляет ~1,84. Небольшие отклонения наблюдаемых величин друг от друга могут быть связаны не только с различием квантовых выходов первичного разделения зарядов, но и с разной интенсивностью и длительностью вспышек света, различной концентрацией медиаторов и т. д.

Полученные оценки для суммы квантовых выходов разделения зарядов на первые две вспышки света достаточно хорошо согласуются с величиной квантового выхода 0,96—0,98, полученной для хроматофоров Rs. rubrum другим методом [Барский и др., 1975]. Некоторое различие найденных величин может быть связано как с тем, что в работе Барского и соавторов определен квантовый выход при непрерывном освещении, так и с различиями в условиях эксперимента.

13.5. Зависимость двухтактных колебаний семихинона от различных условий

Для правильного определения квантового выхода разделения зарядов необходимо изучить зависимость концентрации семихинона Q_{II} от различных условий, таких, как длительность и интенсивность вспышки света, длительность темновой адаптации, концентрации экзогенного донора и др.

Темновая адаптация

Соотношение (13.18) было получено нами в предположении того, что перед первой вспышкой света все молекулы вторичного хинона находятся в окисленной форме. Вместе с тем в восстановительных условиях ($E_н \leq 200$ мВ) время жизни семихинонной формы Q_{II}, как правило, достигает нескольких минут (см. рис. 64, *б*) и темновой адаптации может оказаться недостаточно для того, чтобы полностью окислить образовавшуюся на свету семихинонную форму Q_{II}. Поэтому необходимо выяснить, каким образом темновая адаптация образца сказывается на характере двухтактных колебаний концентрации семихинона вторичного хинона.

Рассмотрим рекуррентное соотношение (13.13) для вероятности застать вторичный хинон в семихинонной форме через время θ после *n*-й вспышки света:

$$p_\theta(n) = \alpha_1 + (1 - \alpha_1 - \beta_1) p_\theta(n-1), \qquad (13.35)$$

где величины α_1 и β_1 определены в формуле (13.17). Ранее мы предполагали, что исходно до первой вспышки света вторичный хинон полностью окислен ($p_\theta(0) = 0$). Это приводило к тому, что вероят-

ность образования семихинона на первую вспышку света была равна α. Как видно из формулы (13.35), в общем случае при недостаточной темновой адаптации ($p_\theta(0)\neq 0$) возможно не только увеличение, но и уменьшение концентрации семихинона на первую вспышку. Это происходит в том случае, когда $\alpha_1+(1-\alpha_1-\beta_1)\ p_\theta(0) < p_\theta(0)$, или $p_\theta(0) > \alpha_1/(\alpha_1+\beta_1)$. Если же $p_\theta(0) = \alpha_1/(\alpha_1+\beta_1)$ то величина $p_\theta(1)$ равна $p_\theta(0)$.

Таким образом, при недостаточной темновой адаптации хроматофоров возможно уменьшение амплитуды изменений поглощения семихинона, индуцированного первой (в серии) вспышкой света. Рассмотрим теперь, как влияет недостаточная темповая адаптация на определение величины суммарной эффективности в переносе электрона $\alpha_1+\beta_1$ по формулам (13.30) —(13-32) и (13.34). Используя формулу (13.35), найдем, что отношение абсорбционных изменений семихинона после второй и первой вспышек равно:

$$\frac{p_\theta(2)}{p_\theta(1)} = \frac{\alpha_1(2-\alpha_1-\beta_1)(1-\alpha_1-\beta_1)^2 p_\theta(0)}{\alpha_1+(1-\alpha_1-\beta_1)p_\theta(0)} \neq 2-\alpha_1-\beta_1 \qquad (13.36)$$

Следовательно, при недостаточной темновой адаптации использование критерия (13.30), учитывающего только первые две вспышки света, дает искаженный результат. Использование формулы (13.31) при недостаточной темновой адаптации также дает неверные результаты. В то же время критерии (13.32) и (13.34) не зависят от времени темновой адаптации.

Следует, однако, отметить, что если за точку отсчета взять величину концентрации семихинона перед первой вспышкой света, то, подставляя в выражение (13.35) величину $r_\theta(n)=p_\theta(n)-p_\theta(0)$, получим следующее рекуррентное соотношение:

$$r_\theta(n) = \alpha_1 - (\alpha_1+\beta_1)p_\theta(0) + (1-\alpha_1-\beta_1)r_\theta(n-1), \qquad (13.37)$$

По аналогии с формулой (13.14), учитывая, что $r_\theta(0)=0$, получим

$$r_\theta(n) = C\frac{1-(1-\alpha_1-\beta_1)^n}{\alpha_1+\beta_1}, \qquad (13.38)$$

где $C=\alpha_1 - (\alpha_1+\beta_1)\ p_\theta(0)$.

Поскольку полученная формула лишь нормирующим множителем отличается от выражения (13.14), то все критерии для определения $\alpha_1+\beta_1$ будут справедливы в рассматриваемом случае.

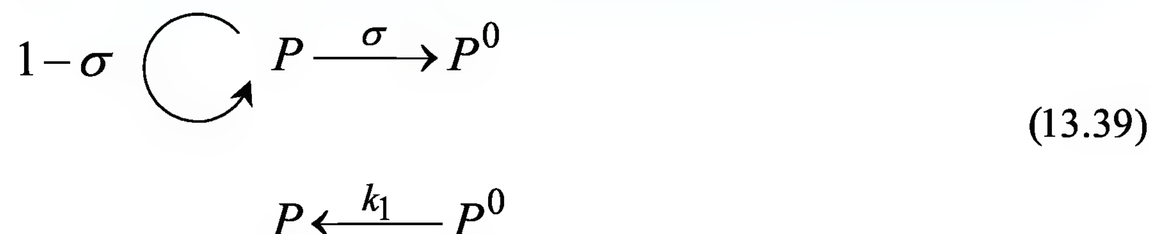
Таким образом, если при недостаточной продолжительности темновой адаптации за точку отсчета принимать величину концен-

трации (вероятности) семихинона перед первой вспышкой света, то использование критериев (13.30) — (13.34) для величин $r_\theta(n)$ дает правильную величину $\alpha_1 + \beta_1$.

Зависимость величин α_1 и β_1 *от номера вспышки*

В рассмотренной выше модели предполагалось, что вероятности перехода α и β (а соответственно α_1 и β_1) вторичного хинона из окисленной формы в семихинонную и из семихинонной формы в полностью окисленную под действием вспышки света не зависят от номера вспышки. Это приближение оправдано лишь при условии, что перед очередной вспышкой света пигмент полностью восстановлен, а окисление полностью восстановленной формы вторичного хинона (убихинола) на каждую вспышку света происходит с одинаковой эффективностью. Ниже мы рассмотрим только нарушение первого условия, которое может происходить как в окислительных условиях, так и при достаточно большой частоте вспышек света, когда за время между вспышками пигмент не успевает полностью восстановиться.

Качественно влияние неполного восстановления пигмента между вспышками света достаточно очевидно. Чем больше номер вспышки, тем меньше пигмента окисляется под действием вспышки, и, следовательно, вероятности перехода α и β должны монотонно уменьшаться при увеличении номера вспышки. Рассмотрим этот вопрос с количественной стороны. Будем предполагать в дальнейшем, что восстановление фотоокисленного пигмента ФРЦ происходит по моноэкспоненциальному закону с константой скорости k_1 [см.: (13.6), (13.8)]. Обозначим через σ вероятность того, что под действием вспышки света пигмент переходит из восстановленного состояния в окисленное. Тогда переходы пигмента ФРЦ под действием серии вспышек света, а также его последующая темновая релаксация могут быть описаны схемой, полностью аналогичной таковой для вторичного хинона [см.: (13.11), (13.12)].



(13.39)

Соответственно этому изменение в зависимости от номера вспышки вероятности окисленной формы пигмента через время τ после очередной (n-й) вспышки света можно в полной аналогии с выражением (13.18) записать в виде

$$P_\tau(n) = \frac{\sigma\, e^{-k_1\tau}}{\sigma_1}\left[1-(1-\sigma_1)^n\right],$$
$$\sigma_1 = \sigma\, e^{-k_1\theta} + 1 - e^{-k_1\theta} \equiv 1 + (\sigma - 1)e^{-k_1\theta}. \qquad (13.40)$$

Таким образом, имеем следующее выражение для вероятности окисленной формы пигмента:

$$P_\tau(n) = \frac{\sigma e^{-k_1\tau}}{1-(1-\sigma)e^{-k_1\theta}}\left[1-\left\{(1-\sigma)e^{-k_1\theta}\right\}^n\right] \qquad (13.41)$$

Отметим, что полученную формулу можно было бы получить и как предельную для периодического освещения (см. гл. 10), причем при таком подходе вскрывается смысл величины σ. Будем в дальнейшем считать, что форма импульса вспышки является прямоугольной, как это показано на рис. 48. Воспользуемся результатами гл. 10, в которой анализируется изменение концентрации окисленной формы переносчика под действием периодического освещения. Кинетика во времени заселенности окисленного состояния пигмента, меняющегося согласно схеме (13.39), имеет вид [см. формулу (10.79)]:

$$P_0(n) = \frac{k_0}{k_1+k_0}\left(1-e^{-(k_1+k_0)\chi}\right)\frac{1-e^{-n[(k_1+k_0)\chi+k_1\theta]}}{1-e^{-[(k_1+k_0)\chi+k_1\theta]}}, \qquad (13.42)$$

$$P_\tau(n) = P_0(n)e^{-k_1\tau}.$$

В этих формулах k_0— константа скорости, пропорциональная интенсивности действующего света, n — номер вспышки, θ — темновой интервал между вспышками, χ — средняя продолжительность вспышки света, k_1 — константа скорости восстановления пигмента. Обычно длительность вспышки света существенно короче, чем время между вспышками, а интенсивность вспышки близка к насыщающей, т. е. справедливы следующие соотношения:

$$\theta >> \chi, \; k_0 > k_1 \qquad (13.43)$$

Рассмотрим предельный случай коротких импульсов света, когда $k_0\chi \to a$ при $\chi \to 0$. В этом случае выражение (13.42) для вероятности окисленной формы пигмента реакционного центра аппроксимируется следующим образом:

$$P_\tau(n) = \frac{\left(1-e^{-a}\right)e^{-k_1\tau}}{1-e^{-(a+k_1\theta)}}\left[1-e^{-n(a+k_1\theta)}\right]. \qquad (13.44)$$

В этом соотношении величина a характеризует интенсивность вспышки света. Выражения (13.41) и (13.44) совпадают друг с другом, если $\sigma = 1 - e^{-a}$ или

$$\sigma = 1 - e^{-k_0\chi}. \qquad (13.45)$$

Это выражение показывает, что вероятность перехода пигмента из восстановленной формы в окисленную экспоненциально зависит от интенсивности света.

На рис. 71 показаны теоретические кривые изменения концентрации окисленной формы пигмента под действием серии последовательных вспышек света при различных значениях $e^{-k_0\chi}$ и $e^{-k_1\theta}$,

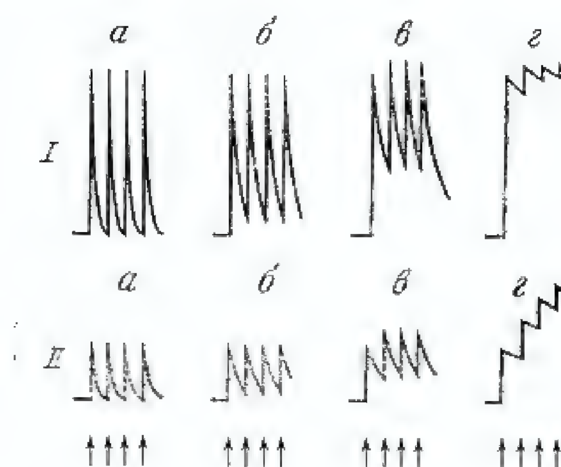


Рис. 71. Теоретические кривые изменений концентрации фотохимически активного пигмента реакционного центра в зависимости от номера вспышки света, построенные исходя из выражения (13.44) при различных значениях параметра $e^{-k_0\theta}$ характеризующего интенсивность света, и параметра, $e^{-k_1\theta}$ характеризующего скорость темнового восстановления пигмента *I* - $e^{-k_0\chi} = 0{,}1$; *II* - $e^{-k_0\chi} = 0{,}7$; величина $e^{k_1\theta}$ равна 0,01 (*а*), 0,1 (*б*), 0,4 (*в*), 0,9 (*г*)

характеризующих интенсивность вспышки и восстановление пигмента за время θ между вспышками. Из рисунка видно, что в случае насыщающей вспышки света (верхняя строка рисунка) увеличение времени темнового восстановления пигмента приводит к тому, что его окисление происходит в основном только на первую вспышку света (рис. 71, *I*, *в, г)*. Если же вспышка света не является насыщающей (нижняя строка рисунка), то окисление пигмента происходит приблизительно в равной степени на каждую вспышку. Кроме того, рисунок иллюстрирует тот факт, что при увеличении времени

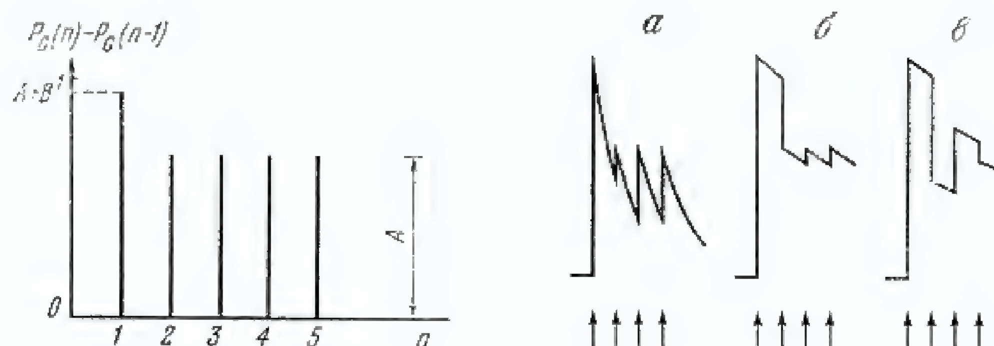


Рис. 72. Теоретическая зависимость величины индуцированного вспышкой света окисления пигмента реакционного центра от номера вспышки, рассчитанная исходя из формулы (13.46)

Величины параметров $e^{-k_0\theta}$ и $e^{-k_1\chi}$, характеризующих интенсивность вспышки и скорость темнового восстановления пигмента, равны соответственно 0,1 и 0,3

Рис. 73. Теоретическая зависимость двухтактных колебаний концентрации семихинонной формы вторичного хинона от номера вспышки

Кривые рассчитаны исходя из уравнения (13.13), в котором вероятности перехода α и β определяются соотношениями (13.48). Величины параметров $e^{-k_0\chi}$ и $e^{-k_1\theta}$, характеризующих зависимость вероятностей перехода от номера вспышки света, равны 0,1 и 0,4 (*а*, *б*) и 0,1 и 0,1 (*в*). Значение параметра $e^{-m\theta}$, характеризующего темновое окисление семихинона, равно 0,4 (*а*) и 0,9 (*б, в*)

темновой релаксации ($k_1\theta \to 0$) количество окисляемого пигмента на вторую, третью и т. д. вспышки света уменьшается.

Рассмотрим количество пигмента, окисляемое на n-ю вспышку света [см. формулу (13.44)]:

$$p_0(n) - p_0(n-1) = A + Be^{-(a+k_1\theta)(n-1)} \qquad (13.46)$$

где величины A и B определены следующим образом:

$$A = \frac{\left(1-e^{-k_0\chi}\right)\left(1-e^{-k_1\theta}\right)}{1-e^{-(k_0\chi+k_1\theta)}}; \quad B = \frac{\left(1-e^{-k_0\chi}\right)^2 e^{-k_1\theta}}{1-e^{-(k_0\chi+k_1\theta)}}. \qquad (13.47)$$

Соотношение (13.46) показывает, что количество пигмента, окисляемое на n-ю вспышку света, экспоненциально зависит от индекса n, стремясь к стационарной величине A (рис. 72).

Зависимость вероятности $\alpha(\beta)$ перехода от номера вспышки может быть обусловлена неполной темновой релаксацией ФРЦ после предыдущей вспышки. В этом случае вероятности перехода вторичного хинона из окисленной формы в семихинонную и из семихинонной формы в окисленную (в пренебрежении остальными состояниями хинона) зависят от номера вспышки следующим образом:

$$\alpha(n) = \left[P_0(n) - P_\theta(n-1)\right]\varphi, \quad \alpha(n) = \left[P_0(n) - P_\theta(n-1)\right]\psi. \qquad (13.48)$$

Здесь величины φ и ψ определяют вероятность попадания электрона на вторичный хинон, находящийся соответственно в окисленной и семихинонной формах.

Таким образом, проведенный нами ранее анализ зависимости количества пигмента, окисляемого под действием n-й вспышки света (см. рис. 71 и 72), описывает зависимость вероятностей перехода α и β от номера вспышки света. В этом случае характер изменения концентрации семихинонной формы вторичного хинона может существенно отличаться от представленных на рис. 69 типов. Для того чтобы количественно рассмотреть эти изменения концентрации семихинона Q_{II}, необходимо величины (13.48) подставить в рекуррентное соотношение, полностью аналогичное формуле (13.13). Полученное таким образом выражение может быть использовано для построения графика концентрации семихинона Q_{II} в зависимости от номера вспышки света. На рис. 73 представлены некоторые из таких зависимостей. Из рис. 73, *а* видно, что кинетика изменения концентрации семихинона Q_{II} может существенно отличаться от двухтактной (рис. 73, *в*), если величины вероятностей перехода зависят от номера вспышки.

Рассмотренный выше анализ позволяет сформулировать следующие критерии, выполнение которых необходимо для наблюдения ярко выраженных двухтактных колебаний концентрации семихинонной формы вторичного хинона под действием вспышек света (сравним с: [O'Keefe et al., 1981]).

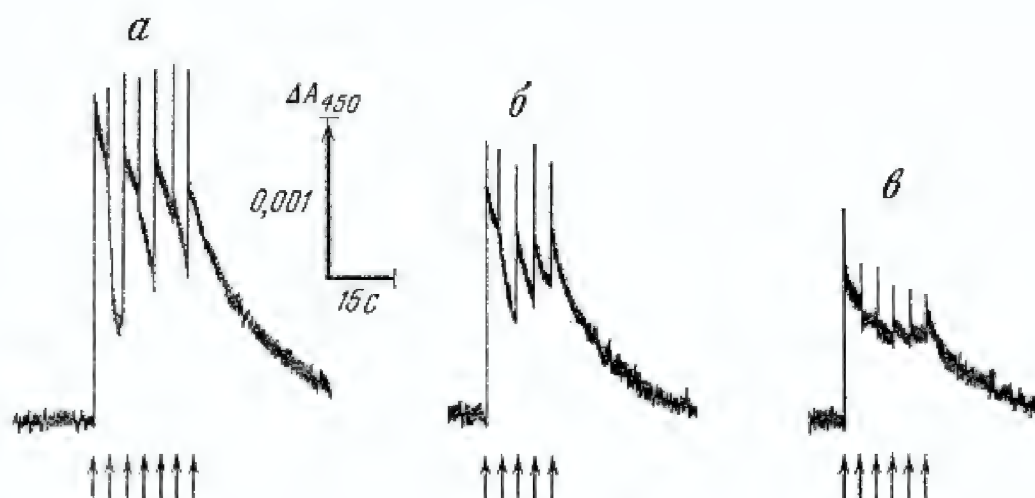


Рис. 74. Зависимость двухтактных колебаний концентрации семихинона Q_{II} от интенсивности вспышки света в хроматофорах Rhodospirillum rubrum

а — контроль; *б, в* — соответственно 40 и 11% от интенсивности вспышки в контроле. Среда инкубации: фосфатный буфер (рН 6,86)—30 мМ; ТМФД — 33 мкМ

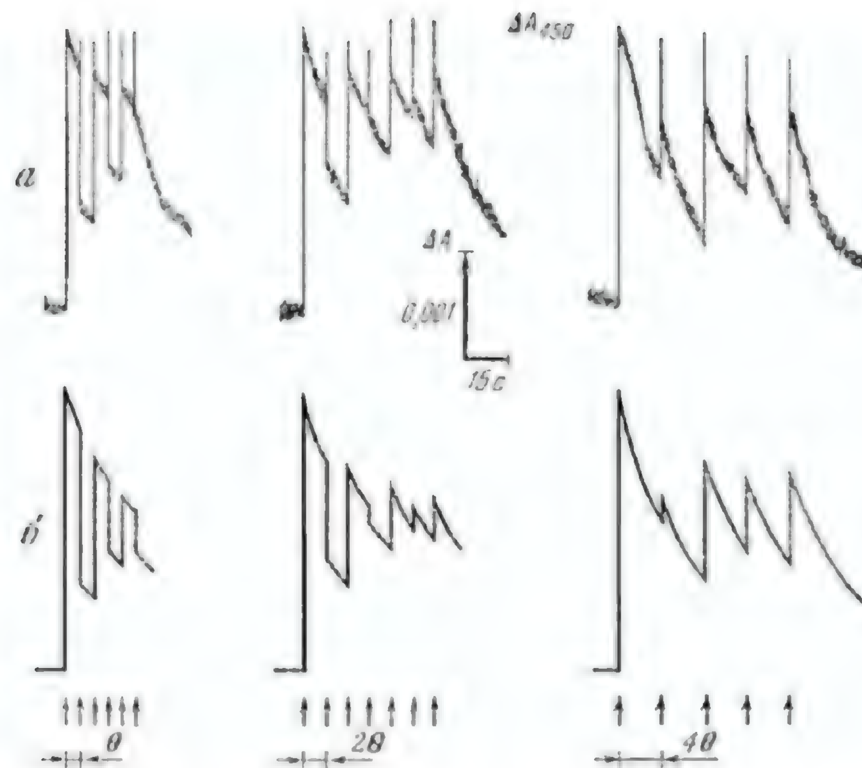


Рис. 75. Зависимость двухтактных колебаний концентрации семихинона Q_{II} в хроматофорах Rs. rubrum от времени между вспышками света (*а*) и соответствующие теоретические кривые (*б*)

Среда инкубации: фосфатный буфер (рН 6,86)—30 мМ; ТМФД — 66 мкМ. Теоретические кривые рассчитывали исходя из соотношения (13.18) при $\alpha+\beta=1{,}824$; $m\theta = 0{,}159$

нирования вторичного хинона in vivo. Хотя в целых клетках в определенных условиях и наблюдаются индуцированные последовательными вспышками света двухтактные колебания концентрации семихинонной формы вторичного хинона [DeGrooth et al., 1978], тем не менее, как правило, для наблюдения двухтактных колебаний необходимо присутствие редокс-медиаторов, таких, как ТМФД, ФМС и другие, которые могут изменить путь переноса электронов. Кроме того, по-видимому, имеется существенная разница в переносе электронов в присутствии медиаторов в хроматофорах различных бактерий. Так, если в хроматофорах Rp. sphaeroides (дикий штамм) и Rp. capsulata (Ala pho$^+$) двухтактные колебания концентрации семихинона вторичного хинона наблюдаются только в окислительных условиях ($E \geq$ 250-300 мВ) [DeGrooth et al., 1978; Bowyer et al., 1979; O'Keefe et al., 1981], то в хроматофорах Rs. rubrum и Rp. sphaeroides R-26 двухтактные колебания наблюдаются также и в восстановительных условиях вплоть до редокс-потенциала среды, при котором происходит восстановление вторичного хинона (100 - 150 мВ) [Vermeglio et al., 1980; Верховский и др. 1981; Шинкарев и др., 1982]. У последних двух бактерий поведение вторичного хинона в хроматофорах в присутствии редокс-медиаторов практически не отличаются от такового в препаратах изолированных ФРЦ [Wraight, 1977; Vermeglio, 1977]. В этой связи можно предположить, что у этих двух видов бактерий нарушена связь между ФРЦ и Qb/c_2-оксидоредуктазами. Анализ относительного содержания бактериохлорофилла и цитохромов у Rs. rubrum показывает, что реакционных центров больше, чем цитохромов *b* [Kakuno et al., 1971]. Поэтому часть реакционных центров должна функционировать изолированно от Qb/c_2-оксидоредуктаз, поскольку, как показано [O'Keefe et al., 1981], комплекс, реакционный центр и Qb/c_2-оксидоредуктаза представляют собой долгоживущее (по крайней мере несколько минут) образование. Не исключено, что существенную роль в индукции двойных колебаний концентрации семихинонной формы вторичного хинона играет цитохром c_2. У тех видов, для которых при выделении хроматофоров цитохром c_2 сохраняется, двухтактные колебания наблюдаются лишь в условиях, когда он окислен. У тех же видов (Rs. rubrum), у которых он вымывается в процессе выделения хроматофоров, двухтактные колебания наблюдаются не только в окислительных, но и в восстановительных условиях. Вполне возможно, что происходит кооперативное взаимодействие между цитохромом c_2 и вторичным хиноном, что в конечном итоге и определяет путь переноса электрона от вторичного хинона в цепь дальнейших реакций. В этой связи отметим, что возможны по крайней мере три различных функционально-значимых пути переноса электронов от вторичного хинона.

1. Одним из вариантов функционирования вторичного хинона является работа в двухтактном режиме, рассмотренном выше. При

этом отношение H^+/e должно быть равным единице.
Такой случай, по-видимому, характерен для систем, в которых ФРЦ не сопряжены с Qb/c_2-оксидоредуктазой, а именно в препаратах изолированных реакционных центров в присутствии экзогенных хинонов и медиаторов, а также в хроматофорах, в которых тем или иным образом нарушено взаимодействие между ФРЦ и Qb/c_2-оксидоредуктазами.

2. Второй путь переноса электрона связан с восстановлением семихинонной формы вторичного хинона от какого-либо специального переносчика, и уже дважды восстановленный хинон передает два электрона в цепь дальнейших реакций (Q цикл Митчела, см. гл. I). Данный механизм функционирования вторич-ного хинона, по-видимому, реализуется в тех реакционных центрах, которые исходно находятся в комплексе с Qb/c_2-оксидоредуктазой. Естественно, что в этом случае в восстановительных условиях не должно наблюдаться двухтактных колебаний концентрации семихинонной формы вторичного хинона. Вместе с тем двухтактные колебания возможны в окислительных условиях, когда переносчик, передающий второй электрон семихинону, Q_{II} окислен.

3. В принципе также возможен непосредственный перенос одного электрона от Q_{II} в цепь дальнейших реакций. Такой механизм функционирования реализуется, по-видимому, в окислительных условиях (см. гл. 12).

Не исключено, что в клетках бактерий, в зависимости от различных условий, таких, как редокс-потенциал среды, аэробные или анаэробные условия и другие, могут реализоваться все три различных типа функционирования вторичного хинона.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процессы трансформации энергии при дыхании и фотосинтезе протекают в определенным образом организованных мультиферментных комплексах, расположенных в мембранах митохондрий, хроматофоров, хлоропластов и др. Вместе с тем до последнего времени практически игнорировались кинетические и термодинамические эффекты объединения компонентов электронного транспорта в комплексы и предполагалось, что перенос электронов между переносчиками может быть представлен как бимолекулярный процесс. Взаимодействие между отдельными комплексами переносчиков происходит либо непосредственно, либо с помощью относительно подвижных переносчиков электронов, таких, как убихинон, цитохром *c* и др. Каждый из комплексов представляет собой своего, рода молекулярную машину, функционирование которой можно описать как переходы между ее различными состояниями. Мультиферментный комплекс можно рассматривать как систему обслуживания, характеризующуюся потоком входящих «требований», «временем обслуживания» и т. д. [см., например, Гнеденко, Коваленко, 1966] и применить математический аппарат, развитый для таких систем.

Число состояний комплекса и соответственно число уравнений даже для небольшого числа переносчиков очень велики. Однако линейный характер уравнений относительно вероятностей состояний комплекса позволяет эффективно применить способны асимптотического описания. По существу два свойства кинетического описания — большая размерность исходной системы уравнений, а также их линейность — компенсируют друг друга, приводя в определенных условиях к системе линейных уравнений небольшой размерности относительно вероятностей состояний всего комплекса в целом, а не относительно состояний индивидуальных переносчиков электронов, как это имеет место в подходе, основанном на законе действующих масс.

Нелинейность уравнений, описывающих перенос электронов между подвижными переносчиками, затрудняла анализ схем электронного транспорта, ограничивала возможности аналитических исследований и приводила к необходимости использования вычислительных машин даже в самых простых ситуациях. Предложенное в книге описание позволяет чисто аналитически рассмотреть перенос электронов внутри комплексов. Таким образом, применяемое описание переноса электронов в комплексах, с одной стороны, физически более оправдано, чем применение закона действующих масс, а с другой — значительно проще.

Существенным для понимания всех аспектов переноса электронов в мембранах, а также сопряженных с ним процессов является вращательная и латеральная диффузия не только «подвижных» переносчиков, но и отдельных комплексов и их агрегатов. Подвижность комплексов приводит к тому, что теряет смысл понятие единой структурной электронтранспортной цепи, так как стехиометрия взаимодействия комплексов определена лишь в среднем и может меняться при изменении внешних условий. Если регулируемая условиями внешней среды латеральная асимметрия в распределении комплексов переносчиков достаточно хорошо установлена для фотосинтетического аппарата высших растений, то, несомненно, аналогичные процессы регулирования пространственной обособленности отдельных реакций могут происходить и у фотосинтезирующих бактерий и митохондрий. Динамическая организация электронного транспорта, проявляющаяся в процессах агрегации—дезагрегации как отдельных переносчиков электронов с комплексами, так и самих комплексов, приводит к быстрому и высокоэффективному переносу электронов (внутри комплексов), увеличивает надежность функционирования цепи переноса электронов, обеспечивая возможность замены вышедших из строя элементов, а также их встраивание в процессе биогенеза и, кроме того, обеспечивает возможность эффективных способов регуляции транспорта электронов за счет изменения степени агрегации комплексов, их пространственной обособленности и взаимного положения в мембране. Асимметричная латеральная и трансмембранная организация комплексов в мембране может направленно регулироваться такими факторами, как липидный состав мембраны, соотношение липид/белок, микровязкость, энзиматическая модификация белков, ионный состав среды и др.

Все изложенное позволяет утверждать, что энергопреобразующие электронтранспортпые комплексы представляют собой минимальную функциональную единицу переноса электронов и образования $\Delta\overline{\mu}H^+$, а их взаимодействие друг с другом, а также с подвижными переносчиками электронов приводит к образованию ансамблей с различными временами жизни. Таким образом, проанализированные в книге кинетические и термодинамические закономерности переноса электронов в отдельных комплексах, а также способы сопряжения подвижных переносчиков, электронов с комплексами являются основой для понимания функционирования энергопреобразующих систем живой клетки.

ЛИТЕРАТУРА

Абдурахманов И. А. Изучение структурной организации пигментов фотосинтетического аппарата пурпурных бактерий методом линейного дихроизма: Автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук. М.: МГУ, 1981. 24 с.

Абдурахманов И. А., Соловьев А. А., Ерохин Ю. Е. Линейный дихроизм реакционных центров *Rps. Sphaeroides* R-26: Действие окислителей и хаотропных агентов.—Докл. АН СССР, 1980, т. 251, с. 483—485.

Барский Е. Л., Борисов А. Ю., Ильина М. Д. и др. Определение квантового выхода первичного преобразования энергии при фотосинтезе. III. Экспериментальные данные для различных фотосинтезирующих организмов.— Молекуляр. Биология, 1975, т. 9, с. 275—282.

Барский Е. Л., Борисов А. Ю., Самуилов В, Д. Комплексы реакционных центров фотосинтезирующих бактерий.— Успехи Соврем. Биологии, 1976, т. 82, №2(5), с. 222—235.

Бартлетт М. С. Введение в теорию случайных процессов. М.: Изд-во иностр. лит., 1958. 384 с.

Баруча-Рид А. Т. Элементы теории марковских процессов и их приложения. М.: Наука, 1969. 512 с.

Баславская С. С. Фотосинтез (избранные главы по физиологии и биохимии процессов). М.: Изд-во МГУ, 1974. 352 с.

Бенсон С. Основы химической кинетики. М.: Мир, 1964. 604 с.

Берг А. И., Нокс П. П., Кононенко А. А. и др. Конформационное регулирование функциональной активности в фотосинтетических мембранах пурпурных бактерий.— Молекуляр. Биология, 1979а, т. 13, с. 81—89.

Берг А. И., Нокс П. П., Кононенко А. А. и др. Конформационная подвижность и функциональная активность ФРЦ из *Rps. sphaeroides*.— Молекуляр. Биология, 19796, т. 13, с. 469—477.

Березин И. В., Варфоломеев С. Д. Биокинетика. М.: Наука, 1979. 317 с.

Богатыренко В. Р., Куликов А. В., Черепанова Е. С. Изучение строения реакционного центра бактерий *R. rubrum* методом ЭПР.— В кн.: Тез. докл. 1-го биофиз. съезда 1982, т. 1, с. 330.

Боголюбов Н. П., Митропольский Ю, А. Асимптотические методы в теории нелинейных колебаний. М.: Наука, 1974. 501 с.

Борисов А. Ю. Принцип мгновенного действия фотосинтеза.— Молекуляр. Биология, 1976, т. 10, с. 460—465.

Борисов А. Ю., Годик В. И. Начальные стадии первичных процессов фотосинтеза.— В кн.: Биофизика фотосинтеза/Под ред. А. Б. Рубина. М.: Изд-во МГУ, 1975, с. 124—144.

Борисов А. Ю., Годик В. И. Новый тип пикосекундных люминесцентных послесвечений, испускаемых хлорофиллами фотосинтезирующих организмов.— Изв. АН СССР. Сер. физ., 1980, т. 44, №4, с. 738—744.

Борисов А. Ю., Ивановский Р. Н. Теоретическое рассмотрение функционирования цитохромных переносчиков заряда при фотосинтезе в применении к исследованию пурпурных бактерий.— Молекуляр. Биология, 1970, т. 4, № 5, с. 642—654.

Борисов А. Ю., Кондратьева Е. Н., Самуилов В. Д., Скулачев В. П. Соотношение фотовосстановления НАД и фотофосфорилирования в хроматофорах *Rhodospirillum rubrum*.— Молекуляр. Биология, 1970, т. 4, № 6, с. 785—807.

Боровков А. А. Теория вероятностей. М.: Наука, 1976. 352 с.
Варфоломеев С. Д. Кинетические закономерности реакций в полиферментных системах. М.: Изд-во МГУ, 1976. 180 с.
Варфоломеев С. Д. Конверсия энергии биокаталитическими системами. М.: Изд-во МГУ, 1981. 256 с.
Варфоломеев С. Д., Березин И. В. Кинетические модели электронного транспорта в биологических системах.— Докл. АН СССР, 1977, т. 236, № 3, с. 748—751.
Варфоломеев С. Д., Наки А., Березин И. В. Кинетика реакций в полиферментных системах. 3. Электронтранспортные процессы.— Молекуляр. Биология, 1977, т. 11, №5, с. 1100—1123.
Васильева А. Б., Бутузов В. Ф. Асимптотические разложения решений сингулярно возмущенных уравнений. М.: Наука, 1973.
Венедиктов П. С., Кононенко А. А., Рубин А. Б., Шинкарев В. П. Кинетическая модель функционирования фотосинтетического реакционного центра, учитывающая его конформационные состояния.— Молекуляр. Биология, 1980, т. 14, № 3, с. 624—631.
Венедиктов П. С., Рубин А. Б., Фрейдлин М. И., Шинкарев В. П. Асимптотический анализ функционирования мультиферментного комплекса, осуществляющего перенос электрона.— Биофизика, 1979а, т. 24, № 4, с. 688— 693.
Венедиктов П. С., Рубин А. Б., Фрейдлин М. И., Шинкарев В. П. Кинетика и термодинамика реакций переноса электронов в комплексах молекул переносчиков при фотосинтезе: Приближенный метод.— Биофизика, 19796, т. 24, № 6, с. 1030—1034.
Венедиктов П. С., Рубин А. Б., Шинкарев В. П. Кинетика и термодинамика электронтранспортных реакций в биологических системах. I. Сравнение кинетических моделей электронного транспорта в биологических системах.— Биол. Науки, 1980а, № 4, с. 50—65.
Венедиктов П. С., Рубин А. Б., Шинкарев В. П. Кинетика и термодинамика электронтранспортных реакций в биологических системах. II. Термодинамика реакций переноса электронов в комплексах молекул переносчиков.— Биол. Науки, 19806, № 9, с. 5—22.
Венедиктов П. С., Шинкарев В. П. О некоторых оценках решений системы дифференциальных уравнений, описывающих процессы электронного транспорта — Биофизика, 1979, с. 24, № 3, с. 382—385.
Вентцель А. Д. Курс теории случайных процессов. М.: Наука, 1975. 320 с.
Вентцель А. Д., Фрейдлин М. И. Флуктуации в динамических системах под действием малых случайных возмущений. М.: Наука, 1979. 424 с.
Вентцель Е. С. Введение в исследование операций. М.: Сов. радио, 1973.
Верховский М. И., Гришанова Н. П., Каурое Б. С., Шинкарев В. П. Восстановление убихинона, поглощение протона и образование трансмембранной разности электрических потенциалов, индуцированные серией вспышек света в хроматофорах *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— Биол. Науки. 1980, № 8, с. 35—37.
Верховский М. И., Каурое Б. С., Рубин А. Б., Шинкарев В. П. Кинетика редокс превращений убисемихинона в первичных реакциях бактериального фотосинтеза.— Молекуляр. Биология, 1981, т. 15, с. 589—600.
Волькенштейн М. В. Общая биофизика. М.: Наука, 1978. 591 с.
Ганаго А. О., Фок М. В., Абдурахманов И. А., Соловьев А. А., Ерохин Ю. Е. Анализ линейного дихроизма реакционных центров, ориентированных в полиакриламидном геле.— Молекуляр. Биология, 1980, т. 14, с. 381—389.
Гарфинкель Д. Моделирование биохимических систем.— В кн.: Вычислительные устройства в биологии и медицине. М.: Мир, 1967, с. 346—372.
Гарфинкель Д. Метод моделирования на вычислительных машинах в биохимии и экологии.— В кн.: Теоретическая и математическая биология. М.: Мир, 1968, с. 317—336.
Гильдерман Ю. И., Кудрина К. Н., Полетаев И. А. Модели Л-систем (системы с лимитирующими факторами).— В кн.: Исследования по кибернетике. М.: Сов, радио, 1970, с. 165—210.

Гихман И. И., Скороход А. В. Введение в теорию случайных процессов. М.: Наука, 1977. 568 с.

Гихман И. И., Скороход А. В., Ядренко М. И. Теория вероятностей и математическая статистика. Киев: Высш. шк., 1979. 408 с.

Гнеденко Б. В. Курс теории вероятностей. М.: Наука, 1965. 400 с.

Гнеденко Б. В., Беляев Ю. К., Соловьев А. Д. Математические методы в теории надежности. М., Наука, 1965. 524 с.

Грин Д., Гольдбергер Р. Молекулярные аспекты жизни. М.: Мир, 1968. 362 с.

Грин Д., Флейшер С. Молекулярная организация биологических преобразующих систем.— В кн.: Горизонты биохимии. М.: Мир, 1964, с. 293—321.

Де Гроот С., Мазур П. Неравновесная термодинамика. М.: Мир, 1964. 456 с.

Гусев М. В., Гохлернер Г. Б. Свободный кислород и эволюция клетки. М.-Изд-во: МГУ, 1980. 224 с.

Даниэльс Ф., Олберти Р. Физическая химия. М.: Мир, 1978. 646 с.

Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. М.: Мир, 1982, т. 1. 392 с.

Еремин Е. Н. Основы химической термодинамики. М.: Высш. шк., 1978.

Ерохин Ю. Е., Чугунов В. А., Махнева З. К. и др. Сравнительное изучение светособирающих комплексов пурпурных фотосинтезирующих бактерий *Chromatium minutissimum* и *Rhodopseudomonas palustris*.— Биохимия, 1977, т. 42, в. 10, с. 1817—1824.

Еругин Н. П. Книга для чтения по общему курсу дифференциальных уравнений. Минск: Наука и техника, 1979. 744 с.

Жаботинский А. М. Концентрационные автоколебания. М.: Наука, 1974. 179 с.

Захарова Н. И., Фабиан М., Успенская Н. Я. и др. Структурно-функциональные характеристики фотосинтетических реакционных центров выделенных с ЛДАО из *Rhodopseudomonas sphaeroides* (дикий тип).— Биохимия, 1981, т. 40, вып. 9, с. 1703—1711.

Зельдович Я. Б. Доказательство единственности решения уравнений закона действующих масс.— Жури. физ. химии, 1938, т. 11, вып. 5, *с.* 685—687.

Каменский Ю. А., Константинов А. А., Ясайтис А. А. Исследование цитохромов *b* в субмитохондриальных частицах сердца быка в присутствии окислительно-восстановительного буфера сукцинат/фумарат.— Биохимия, 1975, т. 40, с. 1022—1031.

Карапетян Н. В., Литвин Ф. Ф., Красновский А. А. Исследование световых превращений хлорофилла методом дифференциальной спектрометрии.— Биофизика, 1963, т. 8, № 2, с. 191—200.

Карлин С. Основы теории случайных процессов. М.: Мир, 1971. 536 с.

Киреев В. Б., Скачков М. П., Трухан Э. М., Филимонов Д. А. О переносе заряда в первичных процессах фотосинтеза.— Биофизика, 1981, т. 26, № 1, с. 12—16.

Клеваник А. В. Исследование первичных процессов в реакционных центрах фотосинтеза: Автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук. М.: МГУ, 1982, 22 с.

Клеваник А. В., Климов В. В., Шувалов В. А., Красновский А. А. Восстановление феофитина в световой реакции фотосистемы II высших растений.— Докл. АН СССР, 1977, т. 236, с. 241—244.

Клеваник А. В., Крюков П. Г., Матвеец Ю. А. и др. Субпикосекундная спектроскопия первичных процессов в реакционных центрах *Rhodopseudomonas sphaeroides* R-26,—Докл. АН СССР, 1981, т. 256, с. 483—486.

Климов В. В., Аллахвердиев С. И., Деметр Ш., Красновский А. А. Фотовосстановление феофитина в фотосистеме 2 хлоропластов в зависимости от окислительно-восстановительного потенциала среды.— Докл. АН СССР, 1979, т. 249, с. 227—230.

Климов В. В., Красновский А. А. Участие феофитина в первичных процессах переноса электронов в реакционных центрах фотосистемы II.— Биофизика, 1982, т. 27, № 1, с. 179—189.

Кондратьева Е. Н. Фотосинтезирующие бактерии и бактериальный фотосинтез. М.: Изд-во МГУ, 1972.

Кондратьева Е. Н., Горленко В. М. Пурпурные и зеленые бактерии.— Усп. микробиологии, 1978, т. 13, с. 9—29.

Кононенко А. А. Молекулярно-кинетические механизмы процессов первичного преобра-

зования энергии света в фотосинтезе.— Автореф. дис. . . . д-ра биол. наук. М.: МГУ, 1980. 44 с.
Кононенко А. А., Андрейцев А. П., Рубин А. Б. Высокочувствительный дифференциальный спектрофотометр для исследования некоторых первичных стадий фотосинтеза.— Биол. Науки, 1967, № 8, с. 138—144.
Константинов А. А. Роль протонов в механизме работы пункта сопряжения III дыхательной цепи митохондрий: цитохромоксидаза как электронно-протонный генератор мембранного потенциала.— Докл. АН СССР, 1977, т. 237, № 3, с. 713—716.
Коркин А. А., Ионов С. П. Физико-химические основы строения и функционирования реакционных центров фотосинтезирующих бактерий. I. Фотохимические процессы и электронная структура пигментов.— Журн. физ. химии, 1981, т. 55, № 12, с. 2993—3005.
Коркин А. А., Ионов С. П. Физико-химические основы строения и функционирования реакционных центров фотосинтезирующих бактерий. П. Организация взаимодействия пигментов в реакционных центрах.— Журн. физ. химии, 1982а, т. 56, № 3, с. 513—523.
Коркин А. А., Ионов С. П. Физико-химические основы строения и функционирования реакционных центров фотосинтезирующих бактерий.— Журн. физ. химии, 19826, т. 56, № 6, с. 1343—1354.
Королюк В. С., Турбин А. Ф. Полумарковские процессы и их приложения. Киев: Наук, думка, 1976.
Ксезенко М. Ю., Константинов А. А. Влияние 2,3-димеркаптоэтанола на перенос электронов во втором пункте энергетического сопряжения дыхательной цепи: свидетельство в пользу Q-цикла.— Биохимия, 1980, т. 45, вып. 2, с. 343—353.
Кукушкин А. К. Исследование кинетики первичных процессов фотосинтеза: Автореф. дис. .. . д-ра физ.-мат. наук. М.: МГУ, 1980. 47 с.
Кукушкин А. К., Тихонов А. Н., Блюменфельд Л. А., Рууге Э. К. Теоретическое исследование первичных процессов фотосинтеза высших растений и водорослей.— Докл. АН СССР, 1973, т. 211, с. 718—721.
Куликов А. В., Мельников А. В., Богатыренко В. Р. и др. Определение расстояния между зарядами после их фоторазделения в хроматофорах из *R. Rubrum.*— Биофизика, 1979, т. 24, № 2, с. 337—339.
Кулиш М. А., Миронов А. Ф. Цитохромоксидаза: Строение и механизмы действия.— Биоорган, химия, 1979, т. 5, № 7, с. 965—986.
Куприянов В. В., Побочин А. С. Влияние pH на стационарную кинетику переноса электронов через цитохромную цепь субмитохондриальных частиц: Кинетическая модель для регуляции активности переносчиков локальной концентрацией ионов водорода в мембране.— Биохимия, 1977, т. 42, вып. 3, с. 408—425.
Ландсберг П. Статистическая теория информации и ансамблей.— В кн.: Задачи по термодинамике и статистической физике/Под ред. П. Ландсберг. М.: Мир, 1974, с. 58—79.
Ланкастер П. Теория матриц. М.: Наука, 1978. 280 с.
Ленинджер А. Митохондрия. М.: Мир, 1966. 274 с.
Ленинджер А. Биохимия. М.: Мир, 1974. 958 с.
Либерман Е. А., Арзуманян А. М., Владимирова М. А., Цофина Л. М. Разность потенциалов на мембране субклеточных частиц. I. Хемиосмотический и хемиэлектрический механизм генерации.— Биофизика, 1976, т. 21, № 3, с. 469—474.
Либерман Е. А., Цофина Л. М. Активный транспорт проникающих анионов фрагментами митохондрий и фотосинтезирующих бактерий.— Биофизика, 1969, т. 14, № 6, с. 1017—1022.
Либов Р. Введение в теорию кинетических уравнений. М.: Мир, 1974. 372 с.
Литвин Ф. Ф. Организация фотосинтетического аппарата и спектральные свойства пигментов.— В кн.: Биофизика фотосинтеза/Под ред. А. Б. Рубина. М.: МГУ, 1975, с. 6—123.
Лихтенштейн Г. И. Многоядерные окислительно-восстановительные металлоферменты. М.: Наука, 1979. 324 с.
Лихтенштейн Г. И., Котельников А. И., Куликов А. В. О строении и механизме функцио-

нирования реакционного центра фотосинтезирующих бактерий,—Докл. АН СССР, 1981, т. 257, № 3, с. 733—736.

Лоч П., Хейлс Б. Свободные радикалы в фотосинтезе.— В кн.: Свободные радикалы в биологии/Под ред. У. Прайора. М.: Мир, 1979, т. 1, с. 230—271.

Лоэв М. Теория вероятностей. М.: Изд-во иностр. лит., 1962. 720 с.

Лукашев Е. П., Нокс П. П., Кононенко А. А. и др. Влияние температуры на темновое восстановление фотоокисленного бактериохлорофилла Р870 у фотосинтезирующих бактерий *Rhodospirillum rubrum*.— Биол. Науки, 1975, № 7, с. 48—55.

Малыгин Э. Г. Вывод кинетических уравнений стационарных ферментативных реакций с использованием многостадийных удельных скоростей превращений ферментных форм.— Биофизика, 1977, т. 22, с. 15—20.

Маркин В. С., Чизмаджев Ю. А. Индуцированный ионный транспорт. М.: Наука, 1974. 232 с.

Маркус М., Минк X. Обзор по теории матриц и матричных неравенств. М.: Наука, 1972. 232 с.

Мейер Р., Одерматт Е., Цюррер X. и др. Локализация реакционных центров в мембране хроматофоров.— В кн.: Тез. докл. 1-го Сов.-Швец, симпоз. «Биологические мембраны: структура и функции» (Тбилиси). М., 1979, с. 16.

Нокс П. П., Кононенко А. А., Рубин А. Б. Функциональная активность фотосинтетических реакционных центров из *Rhodopseudomonas sphaeroides* при фиксированной гидратации препаратов.— Биоорган, химия, 1979, т. 5, с. 879—885.

Нокс П. П., Лукашев Е. П., Кононенко А. А. и др. О возможной роли макромолекулярных компонентов в функционировании фотосинтетических реакционных центров пурпурных бактерий.— Молекуляр. Биология, 1977, т. 11, с. 1090—1099.

Орм-Джонсон В. X. Ферредоксины и другие железо-серусодержащие белки.— В кн.: Неорганическая биохимия/Под ред. Г. Эйхгорна. М.: Мир, 1978,. т. 2, с. 116—156.

Остроумов А., Самуилов В. Д., Ясайтис А. А. Электрохимический градиент ионов водорода на мембранах фотосинтезирующих бактерий,— Успехи Соврем. Биологии, 1979, т. 87, № 2, с. 155—169.

Петров Э. Г., Харкянен В. Н., Нокс П. П. и др. Кинетика электронно-конформационных переходов в фотосинтетических реакционных центрах.— Препринт ИТФ—80—67Р. Киев, 1980.

Петров Э. Г., Харкянен В. Н., Нокс П. П. и др. Кинетическая модель электронных и конформационных переходов в фотосинтетических реакционных центрах пурпурных бактерий.— Изв. АН СССР. Сер. биол., 1983 № 1, с. 28—43.

Пригожин И. Введение в термодинамику необратимых процессов. М.: Изд-во иностр. лит., 1960. 128 с.

Пытьева Н. Ф. Кинетические закономерности первичных электронтранспортных процессов бактериального фотосинтеза: Дис. ... канд. физ.-мат. паук. М.: МГУ, 1974. 151 с.

Пытьева Н. Ф., Кононенко А. А., Ратьни А. И. и др. Теоретическое исследование кинетики темпового восстановления фотохимически окисленного бактериохлорофилла реакционного центра в хроматофорах *Rhodospirillum rubrum*.— Биофизика, 1976, т. 21, с. 118—123.

Пытьева Н. Ф., Ризниченко Г. Ю., Ратьни А. И., Рубин А. Б. Теоретическое обоснование схемы первичных электронтранспортных реакций фотосинтеза бактериального типа.— Studia Biophys., 1973, т. 38, с. 139—154.

Пытьева Н. Ф., Рубин А. Б. Математическое моделирование процессов электронного транспорта при фотосинтезе бактерий.— Studia Biophys., 1973,. т. 35, с. 165—172.

Родигин Н. М., Родигина Э. Н. Последовательные химические реакции. Математический анализ и расчет. М.: Изд-во АН СССР, 1960.

Родова Н. А. Дыхательная система фототрофных пурпурных бактерий.—Успехи микробиологии, 1980, т. 15, с. 3—22.

Розанов Ю, А. Случайные процессы (краткий курс). М.: Наука, 1979. 184 с.

Рубин А. Б. Термодинамика биологических процессов. 2-е изд. М.: Изд-во МГУ, 1984. 264 с.
Рубин А. Б. Биофизические механизмы первичных процессов транспорта электронов в фотосинтезе.— Успехи Соврем. Биологии, 1980, т. 90, № 2, с. 163— 178.
Рубин Б. А., Гавриленко В. Ф. Биохимия и физиология фотосинтеза. М.: Изд-во МГУ, 1977. 328 с.
Рубин А. Б., Пытьева Н. Ф., Ризниченко Г. Ю. Кинетика биологических процессов. М.: Изд-во МГУ, 1977. 328 с.
Рубин А. Б., Фохт А. С. Некоторые кинетические свойства процессов переноса электронов при фотосинтезе.— Биофизика, 1965, т. 10, с. 236—241.
Рубин А. В., Фохт А. С., Венедиктов П. С. Некоторые кинетические свойства процессов переноса электрона в первичных реакциях фотосинтеза.— В кн.: Физико-химические свойства авторегуляции в клетках. М.: Наука, 1968а, с. 172—179.
Рубин А. Б., Фохт А. С., Венедиктов П. С., Кононенко А. А. Математическое описание первичных процессов переноса электронов при фотосинтезе.— Биол. Науки, 19686, № 12, с. 59—67.
Рэкер Э. Биоэнергетические механизмы: новые взгляды. М.: Мир, 1979. 216 с.
Самойлович А, Г. Термодинамика и статистическая физика. М.: ГИТТЛ, 1955. 368с.
Самуилов В. Д. Конверсия энергии в мембранах фотосинтезирующих бактерий.— Успехи Соврем. Биологии, 1982, т. 93, № 1, с. 46—63.
Сарымсаков Т. А. Основы теории процессов Маркова. М.: Гостехиздат, 1954. 281 с.
Скулачев В. П. Аккумуляция энергии в клетке. М.: Наука, 1969. 324 с.
Скулачев В. П. Трансформация энергии в биомембранах. М.: Наука, 1972. 197 с.
Соловьев А. Д. Основы математической теории надежности. М.: Знание, 1975. 127 с.
Сорокин Е. М. Нециклический транспорт электронов и связанные с ним вопросы.— Физиология растений, 1973, т. 20, № 4, с. 733—741.
Сорокин Е. М. Кинетика замедленной флуоресценции хлорофилла *a* in vivo в отсутствии транспорта электронов на акцепторной стороне фотосистемы П.— Биофизика, 1976, т. 21, с. 665—668.
Стефанов В. Е. О вероятностном подходе к ферментативной кинетике.— Вести. ЛГУ, 1975, № 15, с. 151 —153.
Тарчевский И. А. Основы фотосинтеза. М.: Высш. шк., 1977. 232 с.
Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э. и др. Основы биохимии. М.: Мир, 1981. Т. 1.
Уортон Д. К. Цитохромоксидаза.— В кн.: Неорганическая биохимия/Под ред. Г. М. Эйхгорна. М.: Мир, 1978, т. 2, с. 397—433.
Фабиан М., Захарова Н. И., Чаморовский С. К., Кононенко А. А. Влияние рН на фотоиндуцированный перенос электрона в препаратах реакционных центров из *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— Молекуляр. Биология, 1980, т. 14, №5, с. 1193—1198.
Фабиан М., Чаморовский С. К., Захаров Н. И. и др. Индуцированные светом изменения рН и буферной емкости в суспензии фотосинтетических реакционных центров из *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— Молекуляр. Биология, 1981, т. 15, № 2, с. 439—446.
Фейнман Р. Статистическая механика. М.: Мир, 1978. 408 с.
Феттер К. Электрохимическая кинетика. М.: Химия, 1967. 856 с.
Фрейдлин М. И. Субпредельные распределения и стабилизация решений параболических уравнений с малым параметром.— Докл. АН СССР, 1977, т. 235, № 5, с. 1042—1045.
Хангулов С. В., Гольфельд М. Г., Блюменфельд Л. А. О механизме фотопереноса электрона в хлоропластах высших растений.— Докл. АН СССР, 1974, т. 218, с. 726—730.
Харбури Г. А., Маркс Р. Г. Цитохромы *b* и *c*.— В кн.: Неорганическая биохимия/Под ред. Г. М. Эйхгорна. М.: Мир, 1978, т. 2, с. 339—389.
Хинчин А. Я. Работы по математической теории массового обслуживания. М.: Физматгиз, 1963. 236 с.

Чаморовский С. К., Лукашев Е. П., Кононенко А. А. и др. Теоретическое рассмотрение температурных зависимостей кинетики восстановления бактериохлорофилла Р890, окисленного импульсным лазерным и постоянным светом в хроматофорах *Ectothiorhodospira shaposhnikovii*.— Биол. Науки 1977, № 6, с. 38—43.

Чаморовский С. К., Нокс П. П., Ременников С. М. и др. Исследование температурной зависимости кинетики темпового восстановления бактериохлорофилла Р870, окисленного лазерным и постоянным светом в препаратах фотосинтетических реакционных центров *Rhodopseudomonas sphaeroides* штамм 1760-1.—Биофизика, 1976, т. 21, с. 300—306.

Чане Б. Перенос электронов в биологических системах.— В кн.: Электроника и кибернетика в биологии и медицине. М.: Изд-во иностр. лит., 1963 с. 24—71.

Чизмаджев Ю. А., Айтьян С. X. Ионный транспорт через селективные каналы биологических мембран.— Итоги науки и техники. Сер. Биофизика мембран. Т. 2. Ионные каналы и их модели. М.: ВИНИТИ, 1982, с. 5—81.

Шайтан К. В., Рубин А. Б. Изотопные эффекты в реакциях туннелирования электронов в биологических системах и конформационная подвижность белков.— Молекуляр. Биология, 1981, т. 15, с. 368—386.

Шинкарев В. П. Кинетика транспорта электронов в комплексах молекул переносчиков в бактериальном фотосинтезе: Дис. .. . канд. биол. наук М. МГУ, 1978. 250 с.

Шинкарев В. П. О некоторых оценках последовательности мономолекулярных реакций.—Жури. физ. химии, 1982, т. 56, №2, с. 486—488.

Шинкарев В. П., Венедиктов П. С. Вероятностное описание процессов транспорта электронов в комплексах молекул-переносчиков.— Биофизика, 1977, т. 22, № 3, с. 413—418.

Шинкарев В. П., Венедиктов П. С. Рубин А. Б. Транспорт электронов в комплексах молекул переносчиков.— В кн.: Полиферментные системы (тезисы; сообщений всесоюзного семинара «Перспективы применения полиферментных систем в народном хозяйстве»), Вильнюс, 1980, с. 180—206.

Шинкарев В. П., Верховский М. И., Каурое Б. С., Рубин А. Б. Кинетическая модель функционирования двухэлектронного затвора в фотосинтетическом реакционном центре пурпурных бактерий.— Молекуляр. Биология, 1981, т. 15, № 5, с. 1069—1082.

Шинкарев В. П., Рубин А. Б. Кинетика и термодинамика электронтранспортных реакций в биологических системах. 3. Перенос электронов в фотосинтетических реакционных центрах. Импульсный режим возбуждения.— Биол. Науки, 1981, № 8, с. 5—19.

Шинкарев В. П., Рубин А. Б. Симметрия процесса переноса электронов па донорной и акцепторной сторонах фотосинтетического реакционного центра.— Биофизика, 1982, т. 27, № 4, с. 722—724.

Шинкарев В. П., Рубин А. Б. Кинетика и термодинамика электронтранспортных реакций в биологических системах. 4. Перенос электронов и фотосинтетических реакционных центрах. Стационарные характеристики.— Биол. Науки, 1983, № 2, *с.* 5—17.

Шувалов В. А. Перенос электронов в реакционных центрах фотосинтезирующих организмов. Дис. .. . д-ра биол. паук. Пущине: Ин-т фотосинтеза АН СССР, 1982. 379 с.

Шувалов В. А., Клеваник А. В., Шаркав А. В. и др. Участие бактериохлорофилла-800 в пикосекундном переносе электрона на бактериофеофитин в реакционных центрах *Rhodospirillum rubrum*.— Докл. АН СССР 1978, т. 243, с. 1072—1075.

Шувалов В. А., Красновский А. А. Фотохимический перенос электрона в реакционных центрах фотосинтеза.— Биофизика, 1981, т. 26, № 3, с. 544—556.

Эйхгорн Г. (ред.) Неорганическая биохимия. М.: Мир, 1978. Т. 2. 736 с.

Aasa R., Bergstrom J., *Vanngdrd T.* On the interaction and orientation of the iron-sulphur centers A and B in chloroplasts of higher plants.— Biochim. Biophys. Acta, 1981, vol. 637, p. 118—123.

Adman E. T. A comparison of the structure of electron transfer proteins.— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 549, p. 107—144.

Albracht S. P. L, Subramanian J. The number of Fe atoms in the iron-sulphur centers of the respiratory chain.— Biochim. Biophys. Acta, 1977, vol. 462, p. 36—48.
Amesz J., Duysens L. N. M. Primary and associated reactions of system II.— In: Primary processes of photosynthesis/Ed. J. Barber. Amsterdam etc.: Elsevier/North Holland Biomed. Press, 1977, p. 149—186.
Anderson J. M. Consequence of spatial separation of photosystem I and II in thylakoid membranes of higher plant chloroplast.—FEBS Lett., 1980, vol. 124, p. 1 — 10.
Anderson J. M. The role of chlorophyll-protein complexes in the Function and structure of chloroplast thylakoids.— Mol. and Cell. Biochem., 1982, vol. 46, p. 161 — 172.
Anderson B., Anderson J. M. Lateral heterogeneity in the distribution of chlorophyll-protein complexes of the thylakoid membranes of spinach chloroplasts.—Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 593, p. 427—440.
Anderson B., Haehnel W. Location of photosystem I and photosystem II reaction centers in different thylakoid regions of stacked chloroplasts.— FEBS Lett, 1982, vol. 146, p. 13—17.
Anderson J. M., Malltin R. An EPR study of the lateral organization of electron carriers in chloroplast thylakoids.—FEBS Lett., 1982, vol. 148, p. 293—236.
Arata H., Nishimura M. Thermodynamics of electron transfer and its coupling to vectoral processes in biological membranes.— Biophys. J., 1980, vol. 32, p. 791—806.
Arata H., Parson W. W. Enthalpy and volume changes accompanying electron transfer from P870 to quinones in *Rhodopseudomonas sphaeroides* reaction centers.— Biochim. Biophys. Acta, 1981, vol. 636, p. 70—81.
Arnon D. L, Chain R. K- Regulatory electron transport pathways in cyclic photophosphorylation. Reduction of c-550 and cytochrome b_6 by ferredoxin in the dark,—FEBS Lett., 1979, vol. 102, p. 133—138.
Artzatbanov V. Yu., Konstantinov A. A. Effect of antimycin of the E_m/pH dependence of *b* cytochromes in beef heart submitochondrial particles.— In: Spec. FEBS Symp. cell funct. and different. Athens, Greece, 1980, p. 73—74.
Artzatbanov V. Yu., Konstantinov A. A., Skulachev V. P. Involvement of intra-mitochondrial protons in redox reactions of cytochrome *a*.— FEBS Lett., 1978. vol. 87, p. 180—185.
Azzi A. Cytochrome c oxidase: Towards a clarification of its structure, interactions and mechanism.—Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 594, N 4, p. 231—252.
Azzi A., Bissau R., Casey R. P. Hydrophobic interactions, proton movements and dicyclohexylcarbodiimide labeling in cytochrome *c* oxidase.— In: Membrane bioenergetics/Ed. C. P. Lee et al. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1979. p. 13—20.
Babcock G. T., Vickery L. E., Palmer G. The electronic slate of heme in cytochrome oxidase. II. Oxidation reduction potential interactions and heme iron spin state behavior observed in reductive titralions.— J. Biol. Chem., 1978. vol. 253, N 7, p. 2400—2411.
Baccarini-Melandri A., Casadio R., Melandri B. A. Electron transfer, proton translocation and ATP synthesis in bacterial chromatophores.— In: Current topics in bioenergetics /Ed. D. R. Sanadi. N. Y.: Acad. Press, 198), vol. 12, p. 197—258.
Baccarini-Melandri A., Zannoni D. Photosynthetic and respiratory electron flow in the dual functional membrane of facultative photosynthetic bacteria.— J. Bioenerg. and Biomembr., 1978, vol. 10, N 3/4, p. 109—138.
Bachmann R. C., Gillies K., Takemoto J. Y. Membrane topography of the photosynthetic reaction center polypeptides of *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— Biochemistry, 1981, vol. 20, p. 4590—4596.
Bachofen R. Labeling of membranes and reaction centers from the photosynthetic bacterium *Rhodospirillum rubrum* with fluorescamine.— FEBS Lett., 1979. vol. 107, N 2, p. 409—412.
Baltscheffsky M. Photosynthetic phosphorylation.—In: The photosynthetic Bacteria / Ed.

R. K. Clayton, W. R. Sistrom. N. Y.: Plenum Press, 1978, p. 595— 613.
Barber 1. Biophysics of photosynthesis.—Repts Progr. Phys., 1978, vol. 41, N 8 p. 1157—1199.
Barber I. Membrane surface charges and potentials in relation to photosynthesis.— Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 594, p. 253—308.
Barouch Y., Clayton R. K. Ubiquinone reduction and proton uptake by chromatophores of *Rhodopseudomonas sphaeroides* R-26. Periodicity of two in consecutive light flashes.— Biochim. Biophys. Acta, 1977, vol. 462, p. 785— 790.
Bartsch R. G. Cytochromes.— In: The Photosynthetic Bacteria/Ed. R. K. Clayton, W. R. Sistrom. N. Y.: Plenum Press, 1978, p. 249—279.
Bashford C. L., Prince R. C., Takamiya K. I., Dutton P. L.. Electrogenic events in the ubiquinone-cytochrome b/c_2 oxidoreductase of *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 515, p. 223—235.
Bell R. L., Capaldi R. A. The polypeptide composition of ubiquinone — cytochrome c reductase (Complex III) from beef heart mitochondria.— Biochemistry, 1976, vol. 15, p. 996—1001.
Bell R. L., *Sweetland J., Ludwlg B., Capaldi R. A.* Labeling of complex III with ^{35}S diazobenzenesulfonate: Orientation of this electron transfer segment in the mitochondrial inner membrane.— Proc. Natl. Acad. Sci. US, 1979, vol. 76, N 2, p. 741—745.
Bengis C., Nelson N. Purification and properties of the photosystem I read ion center from chloroplasts.—J. Biol. Chem., 1975, vol. 250, p. 2783—2788.
Bengis C., Nelson N. Subunit structure of chloroplast photosystem I reaction center.—J. Biol. Chem., 1977, vol. 252, p. 4564—4569.
Bensasson R., Land E. J. Optical and kinetic properties of semireduced plastoquinone and ubiquinone; electron acceptors in photosynthesis.— Biochim. Biophys. Acta, 1973, vol. 325, p. 175—181.
Berden J. A., Opperdoes F. R. An antimycin-sensitive cytochrome b component in beef heart mitochondria.—Biochim. Biophys. Acta, 1972, vol. 267, p. 7—14.
Bill K., Broger C., Azzi A. Affinity chromatography purification of cytochrome *c* oxidase and bc1 complex from beef heart mitochondria: Use of thiol-sepharose-bound *Saccharomyces cerevisiae* cytochrome c.— Biochim. Biophys. Acta, 1982, vol. 679, p. 28—34.
Blankenship R. E., Parson W. W. The involvement of iron and ubiquinone in, electron transfer reactions mediated by reaction centers from photosynthetic bacteria.— Biochim. Biophys. Acta, 1979a, vol. 545, N 3, p. 42'9—444.
Blankenship R. E., Parson W. W. Kinetics and thermodynamics of electron transfer in bacterial photosynthesis.— In: Photosynthesis in relation to model systems/Ed. J. Barber. Amsterdam: Elsevier, 1979b, vol. 3, p. 71 — 114.
Bochner H., Boger P. Reciprocal formation of cytochrome c-553 and plastocyanin in Scenedesmus.—FEES Lett., 1978, vol. 85, p. 337—339.
Bochner H., Bolune H., Boger P. Reciprocal formation of plastocyanin and cytochrome-553 and the influence of cupric ions on photosynthetic electron transport.—Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 592, p. 103—112.
Boltlon J. R. Photosystem I photoreactions.— In: Primary processes of photosynthesis/Ed. J. Barber. Amsterdam etc.: Elsevier/North Holland Biomed. Press, 1977, p. 187—202.
Borisov A. Yu., Godik V. /. Excitation energy transfer in photosynthesis.— Biochim. Biophys. Acta, 1973, vol. 301, p. 227—248.
Boso B., Deb runner P., Okamura M. Y., Feher G. Mossbauer spectroscopy studies of photosynthetic reaction centers from *Rhodopseudomonas sphaeroides* R-26.—Biochim. Biophys. Acta, 1981, vol. 638, p. 173—177.
Bouges-Bocquet B. Electron transfer between the two photosystems in spinach chloroplasts.— Biochim. Biophys. Acta, 1973, vol. 314, p. 250—256.
Bouges-Bocquct B. Kinetic models for the electron donors of photosystem II of photosynthesis.—Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 594, p. 85—103.
Boveris A., Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide.— Biochem. J., 1973, vol. 134, p. 707—716.

Bowes J., Crofts A. R. Binary oscillation in the rate of reoxidation of the primary acceptor of photosystem II.— Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 590, p. 373—384.

Bowes J., Crofts A. R., Arntzen C. J. Redox reactions on the reducing side of photosystem II in chloroplasts with altered herbicide binding properties.— Arch. Biochem. and biophys., 1980, vol. 200, p. 303—308.

Bowyer J. R., Crofts A. R. On the mechanism of photosynthetic electron transfer in *Rhodopseudomonas capsulata* and *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— Biochim. Biophys. Acta, 1981, vol. 636, p. 218—233.

Bowyer J. R., Dutton P. L., Prince R. C., Crofts A. R. The role of the Rieske iron-sulfur center as the electron donor to ferricytochrome c_2 in *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 592, p. 445—460.

Bowyer J. R., Edwards C. A., Trumpower B. L. Involvement of the iron sulfur protein of the mitochondrial cytochrome *b-*c_1 complex in the oxidant-induced reduction of cytochrome &.—FEBS Lett., 1981, vol. 126, p. 93—97.

Bowyer J. R., Tierney G. V., Crofts A. R. Secondary electron transfer in chromatophores of *Rhodopseudomonas capsulata* ala pho+. Binary out-of-phase oscillations in ubisemiquinone formation and cytochrome 6_{50} reduction of consecutive light flashes.—FEBS Lett., 1979, vol. 101, p. 201—206.

Bowyer J. R., Trumpower B. L. Inhibition of the oxidant-induced reduction of cytochrome *b* by a synthetic analogue of ubiquinone.— FEBS Lett., 1980, vol. 115, p. 171 — 174.

Bowyer J. R., Trumpower B. L. Rapid reduction of cytochrome *c* in the presence of antimycin and its implication for the mechanism of electron transfer in the cytochrome *b-c1* segment of the mitochondrial respiratory chain.— J. Biol. Chem., 1981, vol. 256, N 5, p. 2245—2251.

Branndon J. R., Brocklehursl J. R., Lee C. P. Effect of antimycin A and 2-heptyl-4-hydroxy quinoline N-oxide on the respiratory chain of submitochondrial particles of beef heart.— Biochemistry, 1972, vol. 11, p. 1150—1154.

Briantais J., Vernotte C., Maison B. Influence of stacking on the distribution of light energy in the photosynlhetic apparatus.— Physiol. veget, 1982, vol. 20, p. 111 — 122.

Brunisholz R. A., Cuendet P. A., Theiler R., Zuber IT. The complete amino acid sequence of the single light harvesting protein from chromatophores of *Rhodospirillum rubrum* G-9+.— FEBS Lett., 1981, vol. 129, p. 150—154.

Bunker G., Stern E. A., Blankenship R. E., Parson W. W. An X-ray absorption study of the iron site in bacterial photosynthetic reaction centers.— Biophys. J., 1982, vol. 37, p. 539—551.

Buse G., Sleffens G. /., Stcffens G. C. M. Studies on cytochrome c oxidase. III. Relationship of cytochrome oxidase subunits to electron carriers of photophosphorylation.— Hoppe-Seyler's Ztschr. physiol. Chem., 1978, Bd. 359, S. 1011 — 1013.

Butler W. F., Johnston D. C., Shore H. B. ct al. The electronic structure of Fe^{2}+ in reaction centers from *Rhodopseudomonas sphaeroides*. I. Static magnetization measurements.— Biophys. J., 1980, vol. 32, p. 967—992.

Callis J. B., Parson W. W., Goutennan M. Fast changes of enthalpy and volume on flash excitation of *Chromatium vinosum* chromatophores.— Biochim. Biophys. Acta, 1972, vol. 267, p. 348—362.

Cammack R., Rao K. K., Hall D. O. Metalloproteins in the evolution of photosynthesis.— Biosystems, 1981, vol. 14, p. 57—80.

Capaldi R. A., Sweetland J., Merit A. Polypeptides in the succinate-coenzyme Q reductase segment of the respiratory chain.— Biochemistry, 1977, vol. 16, N 26, p. 5707-5710.

Case *G. D., Leigh J. S.* Intramembrane location of photosynthetic electron carriers in C vinosum revealed by EPR interaction with gadolinium.— In: Proc. llth Rare Earth Res. Conf. Traverse City, Mich., 1974, p. 12—14.

Casey R. P., T helen M., Azzi M. Dicyclohexylcarbodiimide binds specifically and covalently to cytochrome c oxidase while inhibiting its H+-translocation activity.—J. Biol. Chem., 1980, vol. 255, p. 3994—4000.

Cha S. A simple method for derivation of rate equations for enzyme-catalyzed reactions under

the rapid equilibrium assumption or combined assumptions of equilibrium and steady state.—J. Biol. Chem., 1968, vol. 243, N 4 p. 820—825.

Chamorovsky S. K., Remennikov S. M., Kononenko A. A. et al. New experimental approach to the estimation of rate of electron transfer from the primary to secondary acceptors in the photosynthetic electron transport chain of purple bacteria.— Biochim. Biophys. Acta, 1976, vol. 430, p. 62—70.

Chance B. Possible structure of cytochrome oxidase oxygen intermediates and their reactivity toward cytochrome c.— In: Membrane bioenergetics/Ed C. P. Lee et al.: Addlson-Wesley Publ. Co, 1979, p. 1 — 12.

Chance B. Structural and kinetic approaches to electron transfer oxygen reaction and energy conservation in cytochrome oxidase.— In: Chemiosmotic proton circuits in biological membranes/Ed. V. P. Skulachev. P. C. Hinkle. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1981, p. 161 — 170.

Chance B., Higgins J., Garfinkel D. Analogue and digital computer representations of biochemical processes.—Fed. Proc., 1962, vol. 21, p. 75—86.

Chance B., Holmes W., Higgins J., Connely C. Localization of interaction sites in multi-component systems: Theorems derived from analogue.— Nature, 1958, vol. 182, p. 1190—1193.

Chance B., Mueller P., DeVault D., Powers L. Biological membranes — Phys Today, 1980, vol. 33, N 10, p. 32—38.

Chance B., Williams G. The respiratory chain and oxidative phosphorylation.— Adv. Enzymol., 1956, vol. 17, p. 65—134.

Chance B., Williams G., Holmes W., Higgins J. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. V. A mechanism for oxidative phosphorylation.— J. Biol. Chem., 1955, vol. 217, p. 439—451.

Chance B., Wilson D. F., Dutton P. L., Erecinska M. Energy coupling mechanisms in mitochondria: Kinetic, spectroscopic and thermodynamic properties of an energy transducing form of cytochrome *b*.— Proc. Nat. Acad. Sci US 1970, vol. 66, p. 1175—1184.

Clayton R. K.. Primary reaction in bacterial photosynthesis. II. The quantum requirement for bacteriochlorophyll conversion in the chromatophore.— Photochem. and Photobiol., 1962, vol. 1, p. 305—3ll.

Clayton R. K. Primary processes in bacterial photosynthesis.— Annu. Rev. Biophys. and Bioeng., 1973, vol. 2, p. 131 — 156.

Clayton R. K. Photosynthesis: Physical mechanisms and chemical patterns. Cambridge etc.: Cambridge Univ. Press, 1980.

Clayton R. K., Clayton B. J. Relation between pigments and proteins in the photosynthetic membranes of *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— Biochim. Biophys. Acta, 1972, vol. 283, p. 492—504.

Clayton R. K., Sistrom W. R. The Photosynthetic Bacteria. N. Y. etc.: Plenum Press, 1978.

Clement-Metral I. Analog computer simulation of the Blink's effect.— Progr. Photosynth. Res., 1969, vol. 2, p. 1057—1063.

Cogdell R. J., Brune D. C., Clayton R. K. Effects of extraction and replacement of ubiquinone upon the photochemical activity of reaction centers and chromatophores from *Rhodopseudomonas sphaeroides*.—FEES Lett, 1974, vol. 45, p. 344—347.

Cogdell R. J., Thornber J. P. The preparation and characterization of different types of light-harvesting pigment-protein complexes from some purple bacteria.— In: Chlorophyll organization and energy transfer in photosynthesis: Ciba Found. Symp. 61. Amsterdam etc.: Excerta Media, 1979, p. 61—80.

Coin J. T., Hinkle P. C. Proton transport by reconstituted segments of the respiratory chain.—In: Membrane bioenergetics /Ed. C. P. Lee et al. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1979, p. 405—412.

Collins M. L. P., Mallon D., Niederman R. A. Assessment of *Rhodopseudomonas sphaeroides* chromatophore membrane asymmetry through bilateral antiserum adsorption studies.— J. Bacteriol., 1980, vol. 143, p. 221—230.

Crofts A. R., Wood P. M. Photosynthetic electron-transport chains of plants and bacteria and their role as proton pump.— In: Current topics in bioenergetics /Ed. D. R. Sanadi, L. P.

Vernon. N. Y. ect.: Acad. Press, 1978, vol. 7, p. 175—244.
Crowther D., Hind G. Partial characterization of cyclic electron transport in intact chloroplasts.—Arch. Biochem. and Biophys., 1980, vol. 204, p. 568— 577.
Davidson E., Cogdell R. J. The polypeptide composition of the B850 light-harvesting pigment-protein complex from *Rhodopseudomonas sphaeroides* R-26. L—FEES Lett., 1981, vol. 132, p. 81—84.
Debrunner P. G., Schulz C. E., Fclicr G., Okamura M. Y. Mossbaucr study of reaction centers from *Rhodopseudomonas sphaeroides*.—Biophys. J., 1975, vol. 15, p. 226a.
Debus R. J., Okamura M. Y., Fcher G. Dissociation and reconstitution of the H subunit from reaction centers of *Rhodopseudomonas sphaeroides* R-26.— Biophys. J., 1981, vol. 33, p. 19a.
De Grooth B. G., van Grondelle R., Romijn J. C., Pulles M. P. J. The mechanism of reduction of the ubiquinone pool in photosynthetic bacteria at different redox potentials.—Biochim. Biophys. Acta, 1978, vol. 503, p. 480—490.
Deal D. H., Thorn M. B. Effects of 2,3-dimercaptopropanol and antimycin on absorption spectra of heart-muscle preparations.— Biochim. Biophys. Acta, 1962, vol. 59, p. 426—436.
DeVault D. Quantum mechanical tunneling in biological systems.— Quart. Revs Biophys., 1980, vol. 13, N 4, p. 387—564.
De Vries S., Berden J. A., Slater E. C. Properties of semiquinone anion located in the QH_2: cytochrome *c* oxidoreductase segment of the mitochondrial respiratory chain.—FEES Lett., 1980, vol. 122, p. 143—148.
Dickerson R. E., Timkovich R. Cytochromes *c*.— In: The enzymes/Ed. P. D. Boyer. N. Y. etc.: Acad. Press, 1975, vol. 11, p. 397—549.
Dickerson R. E., Timkovich R., Altnassy R. J. The cytochrome fold and the evolution of bacterial energy metabolism.— J. Mol. Biol., 1976, vol. 100, p. 473—491.
Drachev L. A., Frolov V. N., Kaulen A. D. et al. Generation of electric current by chromatophores of *Rhodospirillum rubrum* and reconstitution of electrogenic function in subchromatophore pigment-protein complexes.— Biochim. Biophys. Acta, 1976, vol. 440, p. 637—660.
Drachev L. A., Semenov A. Yu., Skulachev V. P. et al. Fast stages of photoelectric processes in biological membranes. III. Bacterial photosynthetic redox system.— Europ. J. Biochem., 1981, vol. 117, p. 483—489.
Button P. L., Erecinska M., Salo N. et al. Reactions of b-cytochromes with ATP and antimycin A in pigeon heart mitochondria.— Biochim. Biophys. Acta, 1972, vol. 267, p. 15—24.
Dutton P. L., Petty /(. M., Banner H. S., Morse S. D. Cytochrome c, and reaction center of *Rhodopseudomonas sphaeroides* Ga membranes: Extinction coefficient, content, half-reduction potentials, kinetics and electric field alternations.— Biochim. Biophys. Acta, 1975, vol. 387, p. 536—556.
Dutton P. L., Prince R. C. Reaction-center-driven cytochrome interactions in electron and proton translocation and energy coupling.— In: The photosynthetic bacteria./Ed. R. K. Clayton, W. R. Sistrojm. N. Y.: Plenum Press, 1978, p. 525-571.
Dutton P. L., Prince R. C., Ticde D. M. et al. Electron transfer in the photosynthetic reaction center.—Brookhaven Symp. Biol., 1977, N 28, p. 213—237.
Dutton P. L., Wilson D. F. Redox potentiometry in mitochondrial and photosynthetic bioenergetics.—Biochim. Biophys. Acta, 1974, vol. 346, p. 165—212.
Gabelllni N., Bowyer J. R., Hurl E. et al. A cytochrome b/c1 from *Rhodopseudomonas sphaeroides* GA.—Europ. J. Biochem., 1982, vol. 126, p. 105—111.
Garjinkel D., Garfinkel L, Pring M. et al. Computer applications to biochemical kinetics.— Annu. Rev. Biochem., 1970, vol. 39, p. 473—498.
Gazzotli P. Mitochondria: A general survey.— In: Topics in bioelectrochemistry and bioenergetics/Ed. G. Milazzo. Chichesters etc.: Jonn Wiley and Sons, 1980, vol. 3, p. 149—190.
Gerola P. D. Thylakoid membrane stacking: structure and mechanism.— Physiol. veget., 1981, vol. 19, p. 565—580.

Gest H. Energy conservation and generation of reducing power in bacterial photosynthesis.— Adv. Micr. Physiol., 1972, vol. 7, p. 243—282.
Giangrande M., Kevan L. On the spatial correlation between the protein surface and the electron transfer cycle in bacterial photosynthetic reaction centers.— Photochem. and Photobiol., 1981, vol. 33, p. 721—726.
Goldfeld M. G., Hangulov S. V., Blumenfeld L. A. Flash-induced P700 electron spin resonance signal changes and the two electron transfer in chloroplasts.—Photosynthetica, 1978, vol. 12, N I, p. 21—37.
Govindjee, Jursinic P. A. Photosynthesis and fast changes in light emission by green plants.— In: Photochemical and photobiochemical reviews/Ed K. C. Smith. N. Y.: Plenum Press, 1979, vol. 4, p. 125—205.
Groinel-Ellianan Z. Electron transport and photophosphorylation in photosynthetic bacteria.— In: Encyclopedia of plant physiology. Vol. 5. Photosynthesis. N. Y., 1977, p. 635—659.
Gutman M. Electron flux through the mitochondrial ubiquinone.— Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 594, p. 53—84.
Gutman M., Singer T. P., Beinert H. Relation of the respiratory chain-linked reduced nicotinamide-adenine dinucleotide dehydrogenase to energy-coupling site 1.— Biochemistry, 1972, vol. 11, p. 556—562.
Eisenbach M., Gutman M. Dynamic control of the rate of reduction of the *b*-type cytochromes in submitochondrial particles.— Europ. J. Biochem., 1975, vol. 52, p. 107—116.
Eisenberger P., Okamura M. Y., Feher G. The electronic structure of $Fc^{2}+$ in reaction centers from *Rhodopseudomonas sphaeroides*. II. Extended X-ray fine structure studies.—Biophys. J., 1982, vol. 37, p. 523—538.
Eresinska M., Wagner M., Chance B. Kinetics of cytochromes *b.*— In: Current topics in bioenergetics/Ed. D. R. Sanadi, L. Packer. N. Y.: Acad. Press, 1973, vol. 1, p. 267—303.
Erecinska M., Wilson D. F. The effect of antimycin A on cytochromes b_{551}, b_{556} and their relationship to ubiquinone and the iron-sulphur centers S-l *(+N-2)* and S-3.—Arch. Biochem. and Biophys., 1976, vol. 174, p. 143—157.
Erokhin Yu. E., Abdourakhmanov I. A., Prokhorenko I. R. Reaction centers of purple photosynthetic bacteria and organization of their pigments.— In: Photosynthesis. III. Structure and molecular organization of the photosynthetic apparatus/Ed. G. Akoyunoglou. Philadelphia, Pa: Balaban Intern. Sci. Serv., 1981, p.959—968.
Evans E. H., Dickson D. P. E., Johnson C. E. ct al. Mossbauer spectroscopic studies of the nature of centre X of photosystem I reaction centers from the cyanobacterium *Chlorogloca fritschii.*— Europ. J. Biochem., 1981, vol. 118, p. 81—84.
Evans M. C. W. Electron paramagnetic resonance studies in photosynthesis.— In: Primary processes of photosynthesis/Ed. J. Barber. Amsterdam etc.: Elsevier/North Holland Biomed. Press, 1977, vol. 2, p. 433—464.
Feher G., Isacson R. A., McElroy J. D. et al. On the question of the primary acceptor in bacterial photosynthesis: Manganese substituting for iron in reaction centers of *Rhodopseudomonas sphaeroides* R-26.— Biochim. Biophys. Acta, 1974, vol. 368, p. 135—139.
Feher G., Okamura M. Y. Reaction centers from *Rhodopseudomonas sphaeroides.*— Brookhaven Symp. Biol., 1977, vol. 28, p. 183—228.
Feher G., Okamura M. Y. Chemical composition and properties of reaction centers.— In: The Photosynthetic Bacteria/Ed. R. K. Clayton, W. R. Sistrom. N. Y.: Plenum Press, 1978, p. 349—386.
Francis G. A., Richards W. Localization of photosynthetic membrane components in *Rhodopseudomonas sphaeroides* by a radioactive labeling procedure.—Biochemistry, 1980, vol. 19, p. 5104—5111.
Frey T. G., Chen S. 11. P., Schatz G. Structure and orientation of cytochrome *c* oxidase in crystalline membrane.— J. Biol. Chem., 1978, vol. 253, N 12, p. 4389—4395.
Fuller S. D., Capaldi R. A., Henderson R. Structure of cytochrome c oxidase in deoxycholate-derived two-dimensional crystals.— J. Mol. Biol., 1979, vol. 134, p. 305—327.

Hales B. Temperature dependency of the rate of electron transport as a monitor of protein motion.—Biophys. J., 1976, vol. 16, p. 471—480.
Hales B., Gupta A. D. Orientation of the bacteriochlorophyll triplet and the primary ubiquinone acceptor of *Rhodospirillum rubrum* in membrane multilayers determined by ESR speclroscopy.— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 548, p. 276—286.
Hall R. E., Doorley P. F., Niedennan R. A. Transmembrane localization of reaction center proteins in *Rhodopseudomonas sphaeroides* chromatophores.— Photochem. and Photobiol., 1978, vol. 28, p. 273—276.
Haisey Ya. D., Parson W. W. Identification of ubiquinone as the secondary electron acceptor in the photosynthetic apparatus of *Chromatium vinosum*.— Biochim. Biophys. Acta, 1974, vol. 347, p. 404—416.
Hartnon H. J., Hall J. D., Crane F. L. Structure of mitochondrial cristae membranes.— Biochim. Biophys. Acta, 1974, vol. 344, p. 119—155. *Harold F. M.* Membranes and energy trunsduction in bacteria.— In: Current topics in bioenergetics/Ed. D. R. Sanadi. N. Y. etc.: Acad. Press, 1977, vol. 6, p. 83—149.
Hatch M. D., Boardman N. K. The biochemistry of plants. Photosynthesis/N. Y. etc.: Acad. Press, vol. 8, 1981.
Hatefi Y., Galante Y. M. Organization of the mitochondrial respiratory chain.— In: Energy conservation in biological membranes/Ed. G. Schafer, M. Klingenberg. B. etc.: Spring.-Verlag, 1978, p. 19—30.
Jialefi Y., Haavik A. G., Fowler E. R., Grilfilhs D. E. Studies on electron transfer System: Reconstitution of the electron transfer system.— J. Biol. Chem., 1962, vol. 237, p. 2661—2669.
Hauska G. Transmembrane charge separation within the large subunit of photosystem I reaction centers from chloroplasts.— FEES Lett., 1980, vol. 119, p. 232—234.
Hauska G., Samoray D., Oiiich G., Nelson N. Reconstitution of photosynthetic energy conservation. II. Photophosphorylation in liposomes containing photosystem I reaction center and chloroplast coupling-factor complex.— Europ. J. Biochem., 1980, vol. Ill, p. 535—543.
Hauska G., Trebsl A. Proton translocation in chloroplasts.— In: Current topics in bioenergetics/Ed. D. R. Sanadi. N. Y. etc.: Acad. Press, 1977, vol. 6, p. 151—220.
Heathcote P., Williams-Smith D. E., Sihra C. K., Evans M. C. W. The role of the membrane-bound iron-sulphur centers A and B in the photosystem I reaction centre of spinach chloroplasts.— Biochim. Biophys. Acta, 1978, vol. 503, p. 333—342.
Henderson R., Capaldi R. A., Leigh J. S. Arrangement of cytochrome oxidase molecules in two-dimensional vesicle crystals.— J. Mol. Biol., 1977, vol. 112, p. 631—648.
Heron C., Ragan C. L, Trumpower B. L. The interaction between mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase und ubiquinol-cytochrome c oxidoreductase.—Biochem. J., 1978, vol. 174, p. 791—800.
Hill T. E. Steady-state kinetic formalism applied to multienzyme complexes, oxidative phosphorylation and interacting enzymes.— Proc. Nat. Acad. Sci. US, 1976, vol. 73, N 12, p. 4432—4436.
Hill T. E., Chance B. Steady-state kinetics of models of respiratory chain enzymes with isopotential pools and conformational site enzymes.— J. Thcor. Biol., 1978, vol. 72, N 1, p. 17—56.
Hinkle P. C. Coupling ratios of proton transport by mitochondria.— In: Chemiosmotic proton circuits in biological membranes/Ed. V. P. Skulachev, P. C. Hinkle. L. etc:: Addison-Wesley Publ. Co, 1981, p. 49—58.
Hinkle P. C., Kim J. J., Racker E. Ion transport and respiratory control in vesicles formed from cytochrome oxidase and phospholipids.— J. Biol. Chem., 1972, vol. 247, N 4, p. 1338—1339.
Hinkle P., Mitchell P. Effect of membrane potential on equilibrium poise between cytochrome a and cytochrome c in rat liver mitochondria.— J. Bioenerg., 1970, vol. 1, p. 45—60.
Holten D., Hoganson C., Windsor M. et al. Subpicosecond and picosecond studies of electron

transfer intermediates in *Rhodopseudomonas sphaeroides* reaction centers.— Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 592, p. 461 — 477.

Holzapfel G., Bauer R. Computer simulation of primary photosynthetic reactions compared with experimental result on C>2 exchange and chlorophyll fluorescence of green plants.—Zlschr. Naturforsch., 1975, Bd. 30, S. 489—498.

Hurt E., Hauska G. A cytochrome f/b_c complex of five polypeptides with plastoquinol-plastocyanin-oxidoreductase activity from spinach chloroplasts.— Europ. J. Biochem.. 1981, vol. 117, p. 591—599.

Hurt E., Hauska G. Involvement of plastoquinone bound within the isolated cytochrome b_6-f complex from chloroplasts in oxidant-induced reduction of cytochrome b_6.— Biochim. Biophys. Acta, 1982, vol. 682, p. 466—473.

Ingledew W. J., Ohnishi T. An analysis of some thermodynamic properties of iron-sulphur centers in site I of mitochondria.— Biochem. J., 1980, vol. 186, p. 111 — 117.

Iloh S. Effects of surface potential and membrane potential on the midpoint potential of cylochrome c-555 bound to the chromatophore membrane of *Chromatium vinosum.*— Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 591, p. 346— 355.

Izawa S., Good N. E. Effect of salt and electron transport on the conformation of isolated chloroplasts. II. Electron microscopy.— Plant Physiol., 1966, vol. 41, p. 544—552.

Jackson J. B., Button P. L. The kinetic and redox potentiometric resolution of the carotenoid shifts in *Rhodopseudomonas sphaeroides* chromatophores: Their relationship to electric field alterations in electron transport and energy coupling.—Biochim. Biophys. Acta, 1973, vol. 325, p. 102—113.

Johansson B. C., Baltscheffsky M. On the subunit composition of the coupling factor (ATP ase) from *Rhodospirillum rubrum.*—FEES Lett., 1975, vol. 53,. p. 221—224.

Jolchine G., Reiss-Husson F. Studies on pigments and lipids in *Rhodopseudomonas sphaeroides* Y reaction center.— FEBS Lett., 1975, vol. 52, p. 33—36.

Kadenbach B., Merle P. On the function of multiple subunits of cytochrome c oxidase from higher eukaryotes.— FEBS Lett., 1981, vol. 131, N 1, p. I —11..

Kagawa Y. Energy-transducing proteins in thermophilic biomembranes.— J. Membrane Biol., 1980, vol. 55, p. 1—8.

Kakuno T., Barlsch R. C., Nlshikawa K., Horio T. Redox components associated with chromatophores from *Rhodospirillum rubrum* G-9.— J. Biochem., 1971, vol. 70, p. 79—94,

Kaufman K. J., Dution P. L., Netzel T. L. et al. Picosecond kinetics of events, leading to reaction centers bacteriochlorophyll oxidation.— Science, 1975, vol. 188, p. 1301 — 1304.

Ke B. The primary electron acceptors in green-plant photosystem I and photosynthetic bacteria.— In: Current topics in bioenergetics/Ed. D. R. Sanadi, L. P. Vernon. N. Y. etc.: Acad. Press. 1978, p. 75—138.

Keilin D. The history of cell respiration and cytochromes. Cambridge: Univ. Press, 1966.

Kevin L., Wingfield P., Arad T., Weiss H. Three-dimensional structure of ubiquinol: cytochrome *c* reductase from *Neurospora* mitochondria determined by electron microscopy of membrane crystals.— J. Mol. Biol., 1981, vol. 149, N 2, p. 259—274.

Kihara T., Chance B. Cytochrome photooxidation at liquid nitrogen temperatures in photosynthetic bacteria.—Biochim. Biophys. Acta, 1969, vol. 189; p. 116—124.

King T. E., Orii Y., Chance B., Okuniiki K, Cytochrome oxidase. Amsterdam etc.: Elsevier/North Holland Biomed. Press, 1979.

Klimov V. V., Klevanik A. V., Shuvalov V. A., Krasnovsky A. A. Reduction of pheophytin in the primary light reaction of photosystem II.— FEES Lett., 1977, vol. 82, p. 183—186.

Klimov V. V., Krasnovsky A. A. Pheophytin as the primary electron acceptor in photosystem II reaction centers.—Photosynthetica, 1981, vol. 15, p. 592—609.

King T. E., Yu L., Yu C., IVei Y. Subunits of cytochrome oxidase and their large scale preparations.— In: Cytochrome oxidase/Ed. T. E. King et al. Amsterdam etc.: Elsevier/Norlh Holland Biomed. Press, 1979, p. 53—65.

Knaff D. B. The primary reaction of plant photosystem II.— Photochem. and Photobiol., 1977, vol. 26, p. 327—340.

Knaff D. B. Reducing potentials and the pathway of NAD+ reduction.— In: The Photosynthetic Bacteria/Ed. R. K. Clayton, W. R. Sistrom. N. Y.: Plenum Press, 1978, p. 525—571.

Kok B. Light-induced absorption changes in photosynthetic organisms. II. A split-beam difference spectrophotometer.— Plant Physiol., 1959, vol 34, p. 184—192.

Kok B., Forbush B., McGloin M. Cooperation of charges in photosynthetic O_2 evolution. 1. A linear four step mechanism.— Photochem. and Photobiol., 1970, vol. 11, p. 457—475.

Konstantinov A. A., Kunz W. S., Kamensky Y. A. The Q-cycle in the mitochondrial respiration chain.— In: Chemiosmotic proton circuits in biological membranes/Ed. V. P. Skulachev, P. C. Hinkle. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1981, p. 123—146.

Konslantinov A. A., Ruuge E. K. Semiquinone Q in the respiratory chain of electron transport particles.—FEBS Lett., 1977, vol. 81, p. 137—141.

Krab K., Wikstrom M. On the stoichiometry and thermodynamics of proton-pumping cytochrome c oxidase in mitochondria.— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 548, p. 1 — 15.

Kroger A., Klingenberg M. Further evidence for the pool function of ubiquinone as derived from the inhibition of the electron transport by antimycin.— Europ. J. Biochem., 1973, vol. 39, p. 313—323.

Lanne B., Vanngard T. Redox titrations of cytochrome c oxidase: An analysis of a multielectron system.— Biochim. Biophys. Acta, 1978, vol. 501, p. 449—457.

Lam E., Malkin R. Photoreactions of cytochrome b_6 in system using resolved chloroplast electron-transfer complexes.— Biochim. Biophys. Acta, 1982a, vol. 682, p. 378—386.

Lam E., Malkin R. Reconstitution of the chloroplast non-cyclic electron transport pathway from water to NADP with three integral protein complexes.— Proc. Nat. Acad. Sci. US, 1982b, vol. 79, p. 5494—5498.

Lam E., Malkin R. Ferredoxin-mediated reduction of cytochrome b-563 in a chloroplast cytochrome b-653/f complex.—FEBS Lett., 1982c, vol. 141, p. 98— 101.

Lee C. P., Schatz G., Ernster L. Membrane bioenergetics (in honor of E. Racker/ Ed. C. P. Lee et al. Addison-Wesley Publ. Co, 1979.

Lehningcr A. L., Reynafarje B., Alexandra A., Villalobo A. Proton stoichiometry and mechanisms in mitochondrial energy transduction.— In: Membrane bioenergetics/Ed. C. P. Lee et al.: Addison-Wesley Publ. Co, 1979, p. 393—404.

Leung K. H., Hinkle P. Reconstitution of ion transport and respiratory control in vesicles formed from reduced coenzyme Q-cytochrome c. reductase and phospholipids.—J. Biol. Chcm., 1975, vol. 250, N 21, p. 8467—8471.

LI Y., Vries S. D., Leonard /(., Veis H. Topography of the iron-sulphur subunit in mitochondrial ubiquinone: cytochrome c reductase.— FEBS Lett., 1981, vol. 135, N 2, p. 277—280.

Liberman E. A., Skulachev V. P. Conversion of biomembrane-produced energy into electric form. IV. General discussion.— Biochim. Biophys. Acta, 1970, vol. 216, p. 30—42. *Ludwig B.* Heme aa_3-type cytochrome c oxidases from bacteria.— Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 594, N 2/3, p. 177—189.

Ludwig B., Downer N. W., Capaldi R. A- Labeling of cytochrome c oxidase with ^{35}S diazobenzensulfonate: Orientation of this electron transfer complex in the inner mitochondrial membrane.— Biochemistry, 1979, vol. 18, N 8, p. 1401 — 1407.

Lukashev E. P., Timofeev K. N., Kononenko A. A. et al. Temperature dependence of the reduction kinetics of photooxidized reaction centre bacteriochlorophyll in dark and light adapted

chromatophores of purple bacteria.— Photosynthetica, 1976, voi. 10, N 4, p. 423—430.
Malkin R., Bearden A, J. Membrane-bound iron-sulfur centers in photosynthetic systems.— Biochim. Biophys. Acta, 1978, vol. 505, p. 147—181.
Malkin R., Chain R. K. The relationship of the cyclic and non-cyclic electron transport pathways in chloroplasts.—Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 591, p. 381—390.
Malkin S. Fluorescence induction studies in isolated chloroplasts. II. Kinetic analysis of the fluorescence intensity dependence on time.— Biochim. Biophys. Acta, 1966, vol. 126, p. 433—442.
Malkin S. On the equilibrium between the reaction centers of the two photo-systems in photosynthesis. The effect of independent electron-transport chains.—Biophys. J., 1969, vol. 9, p. 489—499.
Malkin S. Delayed luminescence.— In: Primary processes of photosynthesis/Ed. J. Barber. Amsterdam etc.: Elscvier/North Holland Biomed. Press, 1977, p. 349—432.
Malkin S., Silbcrslein B. Kinetics of the fluorescence change and P870 bleaching in chromatophores from *Rhodospirillum rubrum*.— Biochim. Biophys. Acta, 1972, vol. 275, p. 369—382.
Malmstrom B. G. Cytochrome c oxidase: Some current biochemical and biophysical problems.—Quart. Revs Biophys., 1973, vol. 6, N 4, p. 389—431.
Malmstrom B. G. Cytochrome c oxidase: Structure and catalytic activity.— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 549, p. 281—303.
Marinetti T. D., Okamura M. Y., Feher G. Localization of the primary quinone binding site in reaction centers from *Rhodopseudomonas sphaeroides* R-26 by photoaffinity labeling.— Biochemistry, 1979, vol. 18, N 14, p. 3126—3133.
Marres C. A. M., Slater E. C. Polypeptide composition of purified QH_2- cytochrome c oxidoreductase from beef heart mitochondria.— Biochim. Biophys. Acta, 1977, vol. 462, p. 531—548.
Mathis P., Paillolin G. Primary processes of photosynthesis.— In: The biochemistry of plants. Vol. 8. Photosynthesis/Ed. M. D. Hatch, N. K. Boardman. N. Y. etc.: Acad. Press, 1981, p. 97—161.
Matsuura K., Dutton P. L. Flash activated electron and proton translocation through the ubiquinone-cytochrome c oxidoreductase of mitochondria and photosynthetic bacteria.— In: Chemiosmotic proton circuits in biological membranes/Ed. V. P. Skulachev, P. C. Hinkle. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1981, p. 259—270.
Matsuura K.., Nishimura M. Diffusion-potential-induced oxidation and reduction of cytochromes in chromatophores from *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— J. Biochem., 1978, vol. 84, p. 539—546.
McCarty R. E. The ATP-ase complex of chloroplasts and chromatophores.— In: Current topics in bioenergetics/Ed. D. R. Sanadi, L. P. Vernon. N. Y. etc.: Acad. Press, 1978, vol. 7, p. 245—278.
McCarty R. E. Photosynthetic phosphorylation by chloroplasts of higher plants.— In: Photochemical and photobiological reviews/Ed. K. C. Smith. N. Y.; L.: Plenum Press, 1980, vol. 5, p. 1—47.
McElroy J. D., Mauzerall D. C., Feher G. Characterization of primary reactants in bacterial photosynthesis. II. Kinetic studies of the light-induced EPR signal (g-2.0026) and the optical absorbance changes at cryogenic temperatures.—Biochim. Biophys. Acta, 1974, vol. 333, p. 261—277.
Meinhard S. W., Crofts A. R. Kinetic and thermodynamic resolution of cytochrome c_1 from *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— FEBS Lett., 1982. vol. 149, p. 223—227.
Merli A., Capaldi R. A., Ackrell B. A. C., Kearney E. B. Arrangement of complex II (succinate-ubiquinone reductase) in the mitochondrial inner membrane.—Biochemistry, 1979, vol. 18, N 8, p. 1393—1400.
Miller K. R., Staehelin L. A. Analysis of the thylakoid outer surface: Coupling factor is limited to unstacked membrane regions.— J. Cell Biol., 1976, vol. 68, p. 30—47.
Mitcliell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism.— Nature, 1961, vol. 191, p. 144—148.

Mitchell P. Chemiosmotic coupling in oxidative and photosynthetic phosphorylation.—Biol. Revs, 1966, vol. 41, p. 445—502.
Mitchell P. Protonmotive function of cytochrome systems.— In: Electron transfer chains and oxidative phosphorylation/Ed. E. Quagliariello et al. Amsterdam etc.: North Holland Publ. Co, 1975, p. 305—316.
Mitchell P. Possible molecular mechanisms of the protonmotive function of cytochrome systems.—J. Theor. Biol., 1976, vol. 62, p. 327—367.
Miiller H. W., Baltscheffsky M. On the oligomycin-sensitivity and subunit composition of the ATFase complex from *Rhodospirillum rubrum.*— Ztschr. Naturforsch., 1979, Bd. 31, S. 229—232.
Nuchushiai R., Nelson N. Photosystem I reaction centers from *Chlamydomonas* and higher plant chloroplasts.— J. Bioenerg. and Biomembr., 1981, vol. 13, p. 295—306.
Nelson N., Neumann J, Isolation of a cytochrome b_6-f particle from chloroplasts.—J. Biol. Chem., 1972, vol. 247, p. 1817—1824,
Nelzel T. L., Rentzepis P. M., Leigh J. Picosecond kinetics of reaction centers containing bacteriochlorophyll.— Science, 1973, vol. 182, p. 238—240.
Netzel T. L., Rentzepis P. M., Tiede D. M. et al. Effect of reduction of reaction center intermediate upon the picosecond oxidation reaction of the bacteriochlorophyll dimer in *Chromatium vinosum* and *Rhodopseudomonas viridis.*— Biochim. Biophys. Acta, 1977, vol. 460, p. 467—479.
Nicolson P., Petersen L. G. Haem-haem interactions in cytochrome aa_3 during the anaerobic-aerobic transition.— Biochim. Biophys. Acta, 1974, vol. 357, p. 462—467.
Nikolaev G. M., Knox P. P., Kononenko A. A. et al. Photo-induced electron transport and water state in Rhodospirillum rubrum chromatophores.— Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 590, p. 194—201.
Nugent J. H. A., Diner B. A., Evans M. C. W. Direct detection of the electron acceptor of photosystem II: Evidence that Q is an iron-quinone complex.— FEBS Lett, 1981a, vol. 124, p. 241—244.
Nugent J. H. A., Moller B. L., Evans M. C. W. Comparison of the EPR properties of photosystem I iron-sulphur centers A and B in spinach and barley.—Biochim. Biophys. Acta, 1981b, vol. 634, p. 249—255.
Odermalt E., Snozzi M., Bachojen R. Labeling of chromatophore membranes and reaction centers from the photosynthetic bacterium *Rhodospirillum rubrum* with the hydrophobic marker 5-^{125}I iodonaphtyl-1-azide.— Biochim. Biophys. Acta, 1980, vol. 591, p. 372—380.
Ohnishi T. Thermodynamic and EPR characterization of iron-sulfur centers in the NADH-ubiquinone segment of the mitochondrial respiratory chain in pigeon heart.— Biochim. Biophys. Acta, 1975, vol. 387, p. 475—490.
Ohnishi T., Lim J., Winter B., King T. Thermodynamic and EPR characteristics of a HiPiP-type iron-sulfur center in the succinate dehydrogenase of the respiratory chain.—J. Biol. Chem., 1976a, vol. 251, N 7, p. 2105—2109.
Ohnishi T., Salerno /. C., Winter D. B. et al. Thermodynamic and EPR characteristics of two ferredoxin-type iron-sulfur centers in the succinate-ubiquinone reductase segment of the respiratory chain.— J. Biol. Chem., 1976b, vol. 251, N 7, p. 2094—2104.
Ohnishi T., Trumpower B. L. Different effects of antimycin on ubisemiquinone bound in different environments in isolated succinate cytochrome c reductase complex.—J. Biol. Chem., 1980, vol. 255, N 8, p. 3278—3284.
Okamura M. Y., Isaacson R. A., Feher G. Primary acceptor in bacterial photosynthesis: Obligatory role of ubiquinone in photoactive reaction centers of *Rhodopseudomonas sphaeroides.*— Proc. Nat. Acad. Sci. US, 1975, vol. 72, p. 3491—3495.
Okamura M. Y., Isaacson R. A., Feher G. Spectroscopic and kinetic properties of the transient intermediate acceptor in reaction centers of *Rhodopseudomonas sphaeroides.*— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 546, p. 394—417.
O'Keefe D. P., Prince R. C., Dutton P. L. The interaction of the reaction center secondary quinone with the ubiquinone-cytochrome c_2 oxidoreductase in *Rhodopseudomonas sphaeroides* chromatophores.— Biochim. Biophys. Acta, 1981, vol. 637, p. 512—522.

Oren R., Weiss S., Cariy II. et al. ATP synthesis catalyzed by ATPase complex from *Rhodospirillum rubrum* reconstituted into phospholipid vesicles together with bacteriorhodopsin.—Arch. Biochem. and Biophys., 1980, vol. 205, p. 503-509.
Orlicli G., Hauska G. Reconstitution of photosynthetic energy conservation. I. Proton movements in liposomes containing reaction center of photosystem I from spinach chloroplasts.— Europ. J. Biochem., 1980, vol. Ill, p. 525—533.
Overfield R. E., Wraight C. A., DeVault D. Microsecond photooxidation kinetics of cytochrome c_2 from *Rhodopseudomonas sphaeroides* in vivo and solution studies.—FEES Lett., 1979, vol. 105, p. 137-142.
Pachence J. M., Dullon P. L., Blasie J. K. The reaction center profile structure derived from neutron diffraction.— Biochim. Biophys. Acta, 1981, vol. 635, p. 267—283.
Packhatn N. K., Tiede D. M., Mueller P., Dutton P. L. Construction of a flash-activated cyclic electron transport system by using bacterial reaction centers and the ubiquinone-cytochrome b-c_1/c segment of mitochondria.— Proc. Nat. Acad. Sci. US, 1980, vol. 77, N 11, p. 6339—6343.
Palmer G. Iron-sulfur proteins.— In: The enzymes/Ed. P. D. Boycr. N. Y. etc.: Acad. Press, 1975, vol. 12, pt B, p. 1—56.
Parak F., Frolov E. N., Kononenko A. A. ct al. Evidence for a correlation between the photoinduced electron transfer and dynamic properties of the chromatophore membranes from Rhodospirillum rubrum.—FEES Lett., 1980, vol. 117, N 1, p. 368—372.
Parson W. W. The reaction between primary and secondary electron acceptors in bacterial photosynthesis.— Biochim. Biophys. Acta, 1969a, vol. 189, p. 384—396.
Parson W. W. Cytochrome photooxidation in *Chromatium* chromatophores: Each P870 oxidizes two cytochrome c_{422} hemes.— Biochim. Biophys. Acta, 1969b, vol. 189, p. 397—403.
Parson W. W. Quinones as secondary electron acceptors.— In: The Photosynthetic Bacteria/Ed. R. K. Clayton, W. R. Sistrom. N. Y. etc.: Plenum Press, 1978, p. 455—469.
Parson W. W., Case G. D. In Chromatium, a single photochemical reaction center oxidized both cytochrome c_{552} and cytochrome c_{555}.— Biochim. Biophys. Acta, 1970, vol. 205, p. 232—245.
Parson W. W., Cogdell R. J. The primary photochemical reaction of bacterial photosynthesis.— Biochim. Biophys. Acta, 1975, vol. 416, p. 105—149.
Pellin M. J., Wraight C. A., Kaufmann K. J. Modulation of the primary electron transfer rate in photosynthetic reaction centers by reduction of a secondary acceptor.—Biophys. J., 1978, vol. 24, p. 361—369.
Pctligrew G., Bartsch R. G., Meyer T. E., Kamen M. D. Rcdox potentials of The Photosynthetic Bacterial cytochromes c_2 and the structural bases for variability.— Biochim. Biophys. Acta, 1978, vol. 503, p. 509—523.
Petty K. M., Dutton P. L. Properties of the flash-induced proton binding encountered in membranes of *Rhodopseudomonas sphaeroides*: A functional pK on the ubisemiquinone? — Arch. Biochem. and Biophys., 1976a, vol. 172, p. 335—345.
Petty K. M., Dutton P. L. Ubiquinone-cytochrome *b* electron and proton transfer: a functional pK on cytochrome b_{50} in *Rhodopseudomonas sphaeroides* membranes.—Arch. Biochem. and Biophys., 1976b, vol. 172, p. 346—353.
Petty K. M., Jackson J. B. Correlation between ATP synthesis and the decay of the carotenoid band shift after single flash activation of chromatophores from *Rhodopseudomonas capsulata*.— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 547, p. 463—473.
Petty K- M., Jackson J. B. Kinetic factors limiting the synthesis of ATP by chromatophores exposed to short flash excitation.— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 547, p. 474—483.
Petty K. M., Jackson J. B., Dutton P. L. Factors controlling the binding of two protons per electron transferred through the ubiquinone and cytochrome b/c_2 segment of *Rhodopseudomonas sphaeroides* chromatophores.— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 546, p. 17—42.

Potter V. R., Reif A. E. Inhibition of an electron transport component by antimycin A.—J. Biol. Chem., 1952, vol. 194, p. 287—297.
Powers L., Chance B., Ching Y., Angiolilio P. Structural features and reaction mechanism of cytochrome oxidase: Iron and copper X-ray absorption fine, structure.—Biophys. J., 1981, vol. 34, N 3, p. 465—498.
Prince R. C., Baccarini-Melandri A., Hauska G. A. et al. Asymmetry of an energy transducing membrane: The location of cytochrome c_2 in *Rhodopseudomonas sphaeroides* and *Rhodopseudomonas capsulata*.— Biochim. Biophys. Acta, 1975, vol. 387, p. 212—227.
Prince R. C., Dutton P. L. Further studies on the Rieske iron-sulfur center in. mitochondrial and photosynthetic systems: A pK on (he oxidized form.— FEES Lett., 1976, vol. 65, N 1, p. 117—119.
Prince R. C., Dutton P. L. Single and multiple turnover reactions in the ubiquinone-cytochrome b-c_1 oxidorcductase of *Rhodopseudomonas sphaeroides*: The physical chemistry of the major electron donor to the cytochrome C_2, and its coupled reactions.— Biochim. Biophys. Acta, 1977, vol. 462, p. 731—747.
Prince R. C., Dutton P. L. Protonation and reducing potential of the primary electron acceptor.— In: The Photosynthetic Bacteria/Ed. R. K. Clayton. W. R. Sistrom. N. Y. etc.: Plenum Press, 1978, p. 439—453.
Prince R. C., Malsuura K., Hurl E. et al. Reduction of cytochromes b_6 and f in isolated plastoquinol-plastocyanin oxidoreductase driven by photochemical reaction centers from *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— J. Biol. Chem., 1982, vol. 257, p. 3379—3381.
Pring M. The analysis of electron transport kinetics in mitochondria.— In: Models in biomathematics/Ed. F. Fleinmets et al. N. Y.: Dekker, 1968, p. 75— 104.
Prochaska L. J., Bisson R., Capaldi R. A. ct al. Inhibition of cytochrome c oxidase function by dicyclohexyl-carbodiimide.— Biochim. Biophys. Acta, 1981, vol. 637, p. 360—373.
Pullcs M. P. J., van Gorkom H. I., Willemsen J. G. Absorbance changes due to the charge accumulating species in system II of photosynthesis.— Biochim. Biophys. Acta, 1976, vol. 449, p. 536—540.
Pyt'eva N. F., Ratyni A. I., Rub in A. B. Existence of cyclic and non-cyclic electron transport systems in bacterial photosynthetic apparatus. 1. Theoretical differences in kinetic characteristics of cyclic and non-cyclic systems of electron transport.— Photosynthetica, 1976, vol. 10, p. 7—13.
Radmer R., Cheniae G. Mechanisms of oxygen evolution.—In: Primary processes of photosynthesis/Ed. J. Barber. Amsterdam etc.: Elsevier/North Holland Biomed. Press, 1977, p. 303—348.
Rafferty C. N., Clayton R. K. Linear dichroism and the orientation of reaction centers of Rhodopseudomonas sphaeroides in dried gelatin films.— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 545, p. 106—121.
Ragan C. I. NADIT-ubiquinone oxidoreductase.— Biochim. Biophys. Acta, 1976. vol. 456, p. 249—290.
Ragan C.I., Heron C. The interaction between mitochondria! NADH-ubiquinone oxidoreductase and ubiquinol-cytochrome c oxidoreductase.— Biochem. J., 1978, vol. 174, p. 783—790.
Ragan C.I., H inkle P. C. Ion transport and respiratory control in vesicules formed from reduced nicotinamide adenine dinucleotide coenzyme Q reductase and phospholipids.—J. Biol. Chem., 1975, vol. 250, N 21, p. 2472—2476.
Ragan C. I., Smith S., Barley F. C. P., Poore V. M. NADH dehydrogenase.— In: Chemiosmotic proton circuits in biological membranes/Ed. V. P. Skulachev, P. C. Hinklc. L. etc.: Addison-Weslcy Publ. Co, 1981, p. 59—68. *Raven J. A., Smith F. A.* H^+ transport in the evolution of photosynthesis.— Biosystems, 1981, vol. 14, p. 95—111.
Reed D. W., Raveed D., Reporter M. Localization of photosynthetic reaction centers by antibody binding to chromatophore membranes from *Rhodopseudomonas sphaeroides* strain R-26.— Biochim. Biophys. Acta, 1975, vol. 387, p. 368—378.
Rieske J. S. Changes in oxidation-reduction potential of cytochrome b, observed in the presence

of antimycin A.— Arch Biochem. and Biophys., 1971, vol. 145, p. 179—193.
Rieske J. S. Composition, structure and function of complex III of the respiratory chain.— Biochim. Biophys. Acta, 1976, vol. 456, p. 195—247.
Rockley M. G., Windsor M. W., Cogdell R. L, Parson W. W. Picosecond detection of an intermediate in the photochemical reaction of bacterial photosynthesis.—Proc. Nat. Acad. Sci. US, 1975, vol. 72. N 6, p. 2251—2255.
Rosen D., Okamura M. Y., Feher G. Crosslinking of cytochrome c to isolated reaction centers.— Biophys. J., 1979, vol. 25, N 2, p. 204a.
Rubin A. B. Picosecond fluorescence and electron transfer in primary photosynthetic processes.— Photochem. and Photobiol., 1978, vol. 28, p. 1021 — 1028.
Rubin A. B., Kononenko A. A., Venediktov P. S. ct al. Polarization effects in photosynthetic membranes.—Intern. J. Quant. Chem., 1980, vol. 17, p. 587— 595.
Rutherford A. W., Heathcole P., Evans M. C. W. Electron-paramagnetic resonance measurements of the electron-transfer components of the reaction centre of *Rhodopseudomonas viridis*.— Biochem. J., 1979, vol. 182, p. 515—523.
Ruzicka P., Beitiert M., Schepler K. L. et al. Interaction of ubisemiquinone with a paramagnetic component in heart tissue.— Proc. Nat. Acad. Sci. US, 1975, vol. 72, p. 2886—2890.
Salerno J. C., Harmon H. J., Blum H. et al. A transmembrane quinone pair in the succinate dchydrogenase-cytochrome b region.— FEBS Lett., 1977, vol. 82, N 2, p. 179—182.
Sane P. B., Goodchild D. J., Park B. Characterization of chloroplast photosystem I and II separated by a non-detergent method.— Biochim. Biophys. Acta, 1970, vol. 216, p. 162—178.
Sandmann G., Boger P. Physiological factors determining formation of plastocyanin and plastidic cytochrome c-553 in Scenedesmus.— Planta, 1980, vol. 147, p. 330—334.
Saraste M., Penttild T., Wikstrom M. K. F. Quaternary structure of bovine cytochrome o.xidase.— Europ. J. Biochem., 1981, vol. 115, p. 161 —168.
Sato N., Wilson D. F., Chance B. Two b-cytochromes of pigeon heart mitochondria.—FEBS Lett., 1971, vol. 15, p. 209—212.
Saner /C, *Austin L. A.* Bacteriochlorophyll-protein complexes from the light-harvesting antenna of photosynthetic bacteria.— Biochemistry, 1978, vol. 17, p. 2011—2019.
Schäfer G., Klingenberg M. Energy conservation in biological membranes. B. etc.: Spring.-Verl., 1978.
Schneidcr E., Friedl P., Schwulera U., Dose K. Energy-linked reactions catalyzed by the purified ATPase complex (F_0F_1 from *Rhodospirillum rubrum* chromatophores.—Europ. J. Biochem., 1980, vol. 108, p. 331—336.
S/iuvalov V. A., Dolan E., Ke B. Spectral and kinetic evidence for two early electron acceptors in photosystem I.— Proc. Nat. Acad. Sci. US, 1979a, vol. 76, p. 770—773.
S/iuvalov V. A., Ke B., Dolan E. Kinetic and spectral properties of the intermediary electron acceptor a! in photosystem I.— FEBS Lett., 1979b, vol. 100, p. 5—8.
Shuvalov V. A., Klevanik A. V., Sharkov P. G. et al. Picosecond spectroscopy of photosystem I reaction centers.—FEBS Lett, 1979c, vol. 107, p. 313— 316.
Shuvalov V. A., Klimov V. V., Dolan E. ct al. Nanosecond fluorescence and absorbance changes in photosystem II at low redox potential: Pheophytin as an intermediary electron acceptor.—FEBS Lett., 1980, vol. 118, p. 279— 282.
Skulachev V. P. Energy coupling in biological membranes: Current state and perspectives.— In: Energy transducing mechanisms/Ed. E. Racker. Baltimore etc.: Univ. Park Press, 1975, p. 31—73.
Skulachev V. P. Membrane electricity as convertible energy currency for the cell.—Canad. J. Biochem., 1980, vol. 58, p. 161—175.

Skulachev V. P. The proton cycle: History and problems of the membrane-linked energy transduction, transmission and buffering.— In: Chemiosmotic proton circuits in biological membranes/Ed. V. P. Skulachev, P. C. Hinklc. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1981, p. 3—48.
Skulachev V. P., H inkle P. C. Chemiosmotic proton circuits in biological membranes. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1981.
Slater E. C. The mechanism of action of the respiratory inhibitor, antimycin.—Biochim. Biophys. Acta, 1973, vol. 301, p. 129—154.
Slater E. C. The cytochrome b paradox, the BAL-labile factor and the Q-cycle.— In: Chemiosmotic proton circuits in biological membranes/Ed. V. P. Skulachev, P. C. Hinkle. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1981, p. 69—104. *Slater E. C., deVries S.* Identification of the BAL-labile factor.—Nature, 1980, vol. 288, N 5792, p. 717—718.
Smith R. J., Capaldi R. A., Muchtnore D., Dahlquist F. Cross-linking of ubiquinone cytochrome c reductase (complex III) with periodate-cleavable bifunctional reagents.—Biochemistry, 1978, vol. 17, N 18, p. 3719—3723.
Sone N. Bacterial cytochrome oxidases: Some properties and proton pump activity.— In: Chemiosmotic proton circuits in biological membranes/Ed. V. P. Skulachev, P. C. Hinklc. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1981, p. 197—209.
Sorokin E. M. Decay of luminescence of chlorophyll a light collecting molecules in photosystem II.—Photosynthetica, 1978, vol. 12, N" 3, p. 250—273.
Siemens G. J., Base G. Chemical constitution and subunit function of polypeptide II from cytochrome c oxidase.— In: Membrane bioenergetics/Ed. C. P. Lee et al. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1979, p. 79.
Stciner L. A., Okamura M. Y., Lopes A. D. ct al. Characterization of reactions centers from photosynthetic bacteria. II. Amino acid composition of the reaction center protein and its subunits in *Rps. sphaeroides* R-26.— Biochemistry, 1974, vol. 13, p. 1403—1410.
Takamiya K. L, Doi M., Okumatsu H. Isolation and purification of a ubiquinone-cytochrome bc_1 complex from a photosynthetic bacteria *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— Plant and Cell PhysioL, 1982, vol. 23, N 6, p. 987—997.
Takamiya K. I., Dutton P. L. The influence of transmembrane potentials of the redox equilibrium between cytochrome c_2 and the reaction center in *Rhodopseudomonas sphaeroides* chromatophores.— FEBS Lett., 1977, vol. 80, N 2, p. 279-284.
Takamiya K. I., Button P. L. Ubiquinone on *Rhodopseudomonas sphaeroides*: Some thermodynamic properties.— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 546, p. 1 — 16.
Takemoto /., Bachmann R. C. Orientation of chromatophores and spheroplast-derived membrane visiclcs of *Rhodopseudomonas sphaeroides*: Analysis by localization of enzyme activities.— Arch. Biochem. and Biophys., 1979, vol. 195, N 2, p. 526-534,
Thornber J. P., Barber J. Photosynthetic pigments and models for their organization in vivo.— In: Photosynthesis in relation to model systems/Ed, by J. Barber. Amsterdam etc.: Elscvicr/North-Holland Biomed. Press, 1979, p. 27—70.
Tiede D. M., Dutton P. L. Orientation of the primary quinone of bacterial photosynthetic reaction centers contained in chromatophore and reconstituted membranes.—Biochim. Biophys. Acta, 1981, vol. 637, p. 278—290.
Tiede D. M., Leigh J. S., Dutton P. L. Structural organization of the *Chromatium vinosum* reaction center associated c-cytochromes.— Biochim. Biophys. Acta, 1978, vol. 503, p. 524—544.
Tiede D. M., Prince R. C., Dutton P. L. EPR and optical spectroscopic properties of the electron carrier intermediate between the reaction center bacteriochlorophylls and the primary acceptor in *Chr. vinosum*.— Biochim. Biophys. Acta, 1976, vol. 449, p. 447—467.
Trebsl A. Organization of the photosynthetic electron transport system of chloroplasts in the thylakoid membrane.— In: Energy conservation in biological membranes/Ed. G. Schafer, M. Klingenberg. B. etc.: Spring.-Verlag, 1978, p. 84—95.

Trumpower B. L. Evidence for a protonmotive Q-cycle mechanism of electron transfer through the cytochrome *bc* complex.— Biochem. and Biophys. Res. Communs, 1976, vol. 70, N 1, p. 73—80.
Trumpower B. L. New concepts on the role of ubiquinone in the mitochondrial respiratory chain.— J. Bioenerg. and Biomembr., 1981a, vol. 13, N 1/2, p. 1—24.
Trumpower B. I.. Function of the iron-sulfur protein of the cytochrome *b-c1* segment of electron-transfer and energy-conserving reactions of the mitochondria! respiratory chain.— Biochim. Biophys. Acta, 1981b, vol. 639, p. 129—155.
Trumpower B. L., Edwards C. A., Katki A., Oluiishi T. Resolution and reconstitution of the iron-sulfur protein of the cytochrome bc_1 segment of the mitochondrial respiratory chain.— In: Membrane bioenergetics/Hd. C. P. Lee et al. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1979, p. 217—228.
Trumpower B. L., Edwards C. A., Ohnishi T. Reconstitution of the iron-sulfur protein responsible for the g-1.90 electron paramagnetic resonance signal and associated cytochrome c reductase complex.— J. Biol. Chem., 1980, vol. 255, N 15, p. 7487—7493.
Trumpower B. L., Kalki A. Controlled reduction of cytochromes b in succinate-cytochrome c reductase complex by succinate in the presence of ascorbate and antimycin.— Biochem. and Biophys. Res. Communs, 1975, vol. 65, N 1, p. 16—23.
Valkirs G., Feher G. Localization of reaction center protein in spheroplasts from. *Rhodopseudomonas sphaeroides* by ferritin labeling.— Biophys. J., 198], vol. 33, p. 18a.
Valkirs G., Rosen D., Tokwjasu K. T., Feher G. Localization of reaction center protein in chromatophores from *Rhodopseudomonas sphaeroides* by ferritin labeling.—Biophys. J., 1976, vol. 16, p. 223a.
Van den Berg W. H., Prince R. C., Bashford C. L. et al. Electron and proton transport in the ubiquinone cytochrome b-c_2 oxidoreductase of *Rhodopseudomonas sphaeroides*: Patterns of binding and inhibition by antimycin.—J. Biol. Chem., 1979, vol. 254, p. 8594—8604.
Van Gorkom-Pulles M. P. J., Wessels J. S. C. Light-induced changes of absorbance and electron spin resonance in small photosystem 11 particles.— Biochim. Biophys. Acta, 1975, vol. 408, p. 331-339.
Vellliuys B. R., Amesz J. Charge accumulation at the reducing side of system 11 of photosynthesis,— Biochim. Biophys. Acta, 1974, vol. 333, p. 85—94.
Vermaas W., Govindjee. The acceptor side of photosystem II in photosynthesis.— Photochem. and Photobiol., 1981, vol. 34, p. 775—793.
Vermeglio A. Secondary electron transfer in reaction center of *Rhodopseudomonas sphaeroides*: Out-of-phase periodicity of two for the formation of ubisemiquinone and fully reduced ubiquinone.— Biochim. Biophys. Acta, 1977, vol. 459, p. 516—524.
Vermeglio A., Breton J., Barouch Y., Clayton R. K. Orientation of the hemes of high potential cytochromes relative to photosynthetic membranes, as shown by the linear dichroism of oriented preparations.— Biochim. Biophys. Acta, 1980a, vol. 593, p. 299—311.
Vermeglio A., Clayton R. K. Orientation of chromophores in reaction centers of *Rhodopseudomonas sphaeroides*: Evidence for two absorption bands of the dimeric primary electron donor.— Biochim. Biophys. Acta, 1976, vol. 449, p. 500—515.
Vermeglio A., Clayton R. K. Kinetics of electron transfer between the primary and the secondary acceptor in reaction centers from *Rhodopseudomonas sphaeroides*.— Biochim. Biophys. Acta, 1977, vol. 461, p. 159—165.
Vermeglio A., Martinet T., Clayton R. K. Mode of inhibition of electron transport of orthophenantroline in chromatophores and reaction centers of *Rhodopseudomonas*

sphaeroides.—Proc. Nat. Acad. Sci. US, 19801), vol. 77, N 4, p. 1809—1813.
Wagner M., Eresinska M. Experimental and theoretical studies of the electron transport chain.— Arch. Biochem. and Biophys., 1971, vol. 147, p. 666—674.
Wainio W. W. Cytochrome c oxidase: two models.— Biol. Revs, 1983, vol. 58, p. 131 —156.
Walz D. Thermodynamics of oxidation-reduction reactions and its application to bioenergetics.— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 505, p. 279—353.
Weiss H., Wingfield P., Leonard A. Structure and biogenesis of succinate: Ubiquinone reductase and ubiquinol: cytochrome c reductase in *Neurospora crassa* mitochondria.— In: Membrane bioenergetics/Ed. C. P. Lee et al. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1979, p. 119—132.
Wiemkcn V., Theiler R., Bachofen R. Lateral organization of proteins in the chromatophore membrane of Rhodospirillum rubrum studied by chemical cross-linking.—J. Bioenerg. and Biomembr., 1981, vol. 13, p. 181—194.
Wikstrom M. K. F., Berden J. A. Oxidoreduction of cytochrome b in presence of antimycin.— Biochim. Biophys. Acta, 1972, vol. 283, p. 403—420.
Wikstrom M. K. F. The different cytochrome b components in the respiratory chain of animal mitochondria and their role in electron transport and energy conversion.— Biochim. Biophys. Acta, 1973, vol. 301, p. 155—193.
Wiksirom M. The prolonmotivc function of cytochrome oxidase.— In: Chemiosmotic proton circuits in biological membranes/Ed. V. P. Skulachev, P. C. Hinkle. L. etc.: Addison-Wesley Publ. Co, 1981, p. 171 — 180.
Wiksirom M. K. F., Harmon li. J., Ingledew W. J., Chance B. A revaluation of the spectral, potentiometric and energy-linked properties of cytochrome c oxidase in mitochondria.— FEBS Lett., 1976, vol. 65, N 3, p. 259—277.
Wikstrom M. K,. F., Krab K. Proton-pumping cytochrome c oxidase.— Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 549, p. 177—222.
Wiksirom M. K. F., Krab K., Saraste M. Cytochrome oxidase: A synthesis. L. etc.: Acad. Press, 1981.
Wilson D. F., Erecinska M. Thermodynamic relationships among cytochrome b_k cytochrome b_t and ubiquinone in mitochondria.— Arch. Biochem. and Biophys., 1975, vol. 167, p.-116—128.
Wilson D. F., Erecinska M., Leigh J. S., Copelmann M. The properties of the mitochondrial succinate-cytochrome *c* reductase.— Arch. Biochem. and Biophys., 1972, vol. 151, p. 112—121.
Wilson D. F., Erecinska M., Ohnishi T., Dutton P. L. Energy relationships between the redox and phosphorylation reactions in mitochondria.— Bioelectrochem. and Bioenerg., 1974, vol. 1, p. 3—13.
Witt H. T. Energy conversion in the functional membrane of photosynthesis. Analysis by light pulse and electric pulse methods. The central role of the electric field.—Biochim. Biophys. Acta, 1979, vol. 505, p. 355—429.
Wolman F. A. Determination and modification of the redox state of the secondary acceptor of photosystem II in the dark.— Biochim. Biophys. Acta, 1978, vol. 503, p. 263—273.
Wood P. M. Interchangeable copper and iron proteins in algal photosynthesis: Studies on plastocyanin and cytochrome c-552 in *Chlamydomonas*.— Europ. J. Biochem., 1978, vol. 87, p. 9—19.
Wood P. M. The interrelation of the two c-type cytochromes in *Rhodopseudomonas sphaeroides* photosynthesis.— Biochem. J., 1980, vol. 192, p. 761—764.
Wraight C. A. Electron acceptors of photosynthetic bacteria reaction centers: Direct observation of oscillatory behavior suggesting two closely equivalent ubiquinones.— Biochim. Biophys. Acta, 1977, vol. 459, p. 525—531.
Wraight C. A. Involvement of the «protein» in redox-coupled protonation events of the quinone-acceptor-complex in bacterial photosynthetic reaction centers.— In: Frontiers of biological energetics/Ed. P. L. Dutton. N. Y.: Acad. Press, 1978, vol. 1, p. 218—226.

Wraight C. A. The role of quinones in bacterial photosynthesis.— Photochem. and Photobiol., 1979a, vol. 30, p. 767—776.

Wraight C. A. Electron acceptors of bacterial photosynthetic reaction centers. II. H+ binding coupled to secondary electron transfer in the quinone acceptor complex.—Biochim. Biophys. Acta, 1979b, vol. 548, p. 309—327.

Wraight C. A., Stein R. R. Redox equilibrium in the acceptor quinone complex of isolated reaction centers and the mode of action of o-phenanthroline.— FEES Lett., 1980, vol. 113, p. 73—77.

Yu C., Yu L. Ubiquinone-binding proteins.—Biochim. Biophys. Acta, 1981, vol. 639, p. 99—128.

Yu L., Yu C. A. Isolation and properties of the cytochrome b-c, complex from *Rhodopseudomonas sphaeroides* R-26.— Biochem. and Biophys. Res. Communs, 1982, vol. 106, p. 1285—1292.

Zhen J. Y., Tang H., Li S., Tsou C. L. The three-phasic reduction of cytochrome *b* in succinate-cytochrome *c* reductase.— Biochim. Biophys. Acta, 1981, vol. 637, p. 551—554,

Zurrer H., Snozzi M., Hanseimann K., Bachofen R. Localization of the subunits of the photosynthetic reaction centers in the chromatophore membrane of *Rhodospirillum rubrum*.— Biochim. Biophys. Acta, 1977, vol. 460, p. 273—279.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

Азид 10
Акцепторы электронов
— ФРЦ зеленых бактерий 37
— ФРЦ пурпурных бактерий 29, 37, 43
— ФРЦ фотосистемы I 34, 36, 37
— ФРЦ фотосистемы II 34, 37, 38, 43
Амитал 10
Анион-радикал 30
Антимицин А 10, 15—17, 33
АТФ 5—7, 15, 23
АТФаза 6, 7, 22, 24, 35, 40
Бактерии фотосинтезирующие 21, 22
— зеленые 21
— пурпурные 21
— — несерные 21
— — серные 21
Бактериофеофитин 5, 24, 27—29
Бактериохлорофилл 5, 21, 24, 28, 29
Белки
— железосерусодержащие 8, 12, 36
— медьсодержащие 20
Британский антилюизит (БАЛ) 5, 16
Вероятность 49
— переходная 57—63
— предельная (стационарная) 69—72
Вторичный хинон ФРЦ пурпурных бактерий 30, 245, 259
Гадолиний 25
Гем 8
Гем-гемовое взаимодействие 20
Генераторы $\Delta\bar{\mu}H^+$ 11, 12, 14, 19, 31—35, 39—44
Граф 77
Двойственность кинетическая 95
Двухэлектронный затвор в ФРЦ
— пурпурных бактерий 259, 275
— фотосистемы II 257, 275
Детального равновесия принцип 121, 213
Диазобснзосульфонат 13, 14
Димср бактериохлорофилла 24, 27
Дициклогексилкарбодиимид (ДЦКД) 5, 20
Донор электронов 22, 23
Дыхательная электрон-транспортная цепь 10
Железо
— в ФРЦ пурпурных бактерий 24, 27, 30
— в ФРЦ фотосистемы II высших растений 37
Железо-медный биядерный комплекс 21
Железо-серные центры 8, 36
— митохондрий 8, 12, 13
— растений 36
— фотосинтезирующих бактерий 32
Железо-серный белок Риске 11, 12, 15, 16, 18, 32, 35
Закон действующих масс 75, 88
Зеленые серные бактерии 21
Иерархия величин констант скорости 191—193
Ингибиторы 10
Каротиноиды 23, 25
Квазисостояния 180—182
Квантовый выход разделения зарядов
— у пурпурных бактерий 275
— в фотосистеме II 275
Кинетическая модель переноса электронов в ФРЦ
— единичный световой импульс 197— 204
— последовательность вспышек света 265—269
— стационарное освещение 205—216
Комплексы молекул переносчиков 9—21
— кинетическое описание 76—82
— характеристика 9—21, 39—44
Константы скорости
— бимолекулярные 75, 79
— молекулярные 77, 79
Кооперативпость в переносе электронов 77
— влияние на кривые редокс титрования 104—108

Латеральная неоднородность распределения комплексов 38, 39
Линейная схема переноса электронов 10, 14
Липиды 10

Марковский случайный процесс 57
— однородный 61
Марганец 35
Медь 8, 11, 19, 21
Менахинон 25
Металлы переходные 8
Метод контура 158
— лимитирующих факторов 90
— рекуррентный 154
Миграция энергии 23
Митохондрии 6, 14
Мультифермеитные комплексы 9, *42, 47*

НАДН-дегидрогеназа 12, 22
Независимость случайных событий 52
— редокс-состояпнй переносчиков 88, 91, 103
Несерпые пурпурные бактерии 21, 26, 31
Нециклический транспорт электронов 183, 192, 193
Никотинамидадениндинуклеотид (НАД) 5, 7, 15
Никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ) 5, 35, 43

Обратный транспорт электронов 43
Ортофенантролин 245
Оценки 147
— скорости переноса электронов через комплекс 171
— стационарные 157, 211
— экспоненциальные 148

Первичный хиной ФРЦ пурпурных бактерий 25, 27—29
Переносчики электронов 8
— одпоэлектронные 8
— двуэлектропные 30, 184
— мпогоэлектропные 186, 206
Переходные процессы в ФРЦ 230
Периодическое освещение 224
— искажение световых кривых 226 — 228
Пигмент-белковые комплексы 23
Пирицидии 10
Пластоцианин 5, 20, 40, 43
Пластохшюн 5, 34, 37, 39
Поверхностный потенциал 9
— влияние па редокс-потенциал переносчиков 9
Полная группа событий 51
Потенциал электрический мембранный 9
Потенциал электрохимический ионов водорода 6, 7, 23, 34, 36
— среднеточечный 12
Принцип
—детального равновесия 121
—микроскопической обратимости 126
— промежуточного генератора 43
Производство энтропии 140
Проназа 26
Процесс
— пуассоновскнй 233
— транзитивный 69
Пул хинонов 29

Разделение зарядов 23, 28
Распределение Пуассона 233
Расстояние между редокс-центрами ФРЦ 25, 27, 28
Реакционный центр
— фотосинтезирующих бактерий 24
— фотосистемы I 35
— фотосистемы II 37
Редокс-потенциал 9, 12, 36, 37, 43,108, 192
Релаксация
— к стационарному состоянию 134
— темновая 231
Риске железо-серный центр
— в митохондриях 14
— в хлоропластах 35
— в хроматофорах 32
Ротенон 10

Световые кривые
— пигмента 217
— цитохрома 218, 219
Светособирающий пигмент-белковый комплекс 5, 23
— у пурпурных бактерий 23
Свободная энергия 125
Семихинон
— в комплексе III митохондрий 15, 17—19
— в сукцинатдегндрогеназе 14
— в ФРЦ пурпурных бактерий 30
— в ФРЦ фотоспстемы II 37
Серные пурпурные бактерии 21
Сила термодинамическая 142
Симметрия переноса электронов 93—98, 195—196
Случайные события 46
Случайный процесс 56
Собственные значения 67
Состояния
— комплекса 47—48
— системы разложения H_2O 38
Среднеточечиый редокс-потенциал: 36, 192
Сродство реакции 143
Субъединичный состав
— b—c_1 комплекса пурпурных бактерий 31

— b_6—f комплекса высших растений 37
— комплекса III митохондрий 14
— сукцпнатдегидрогеназы 13
— ФРЦ пурпурных бактерий 24, 25
— ФРЦ фотосистемы I 35
Сукцинат 7, 13, 15, 16, 18, 41
Сукцинатдегидрогеназа (СДГ) 5, 13
Сукцинат-цитохром с оксидоредуктаза 16
Супероксид-анион-радикал 18, 19
Схема
— Викстрема—Вердена 15, 17
— Q-цикл Митчела 16, 17—19

Темновая релаксация переносчиков ФРЦ 234, 235
Тетраметил-*n*-фенилендиамин (ТМФД) 5, 260—264
Трипсин 26

Убихинон (Q, KoQ) 5, 9, 11, 24, 30, 39
Уравнение
— Гендерсона—Хассельбалха 115
— Колмогорова 59, 65, 66
— Колмогорова—Чепмена 58
— Нернста 107—111
Усреднение 180

g-Фактор 36
Феофитин 5, 34, 37
Ферредоксин 34—37
Ферредоксин-НАДФ-редуктаза 36, 39
Феррицитохром с 11
Флавннаденипдинуклеотид (ФАД) 5, 10, 15, 36
Флавипмононуклеотид (ФМН) 5, 9, 10, 12, 13, 15
Флуорескамин 26
Формула
— полных вероятностей 51, 58, 60, 109, 233
— умножения 51
Фосфат неорганический 5
Фотосинтез бактериальный 23
Фотосинтетический реакционный центр (ФРЦ) 5, 23, 37
— пурпурных бактерий 24—29, 37
— фотосистемы I 34—36
— фотосистемы II 34, 35, 37

Фумарат 41

Характеристика переноса электронов в комплексах 82—84
Химический потенциал 124
α-Химотрипсин 26
Хинон-связывающие белки 13
Хлоропласты 6, 14
Хлорофилл 36
Хроматофоры 6, 14

Центр
— «*i*» 17, 18
— «о» 17, 18
Цепь
— Маркова 61
— Электронного транспорта (ЦЭТ) 7
Цианид 10
Циклический транспорт электронов 31, 36, 199—204
Цитохромоксидаза 19
— как протонная помпа 20
— схема функционирования 21
Цитохромы 8
— a 8, 10, 11, 19,20
— a_3 8, 10, 11, 19, 20
— b_6 34, 35
— b_{50} 33
— b_{559} 37
— b_{562} 8, 10, 11, 14, 17, 18
— b_{566} 8, 10, 11, 14, 17, 18
— $b_{557,5}$ 10,13
— c 8, 10, 11, 14, 15, 22
— c_1 8, 10, 11, 14, 15, 31
— c_2 22, 32
— c_b 32
— c_{555} 20
— c_{553} 40, 43
— f 34, 35

Электрохимический потенциал ионов водорода 5—7
Энергия активации 255
Энтропия 125, 137
Эстафетный транспорт ионов 45, 72
Эффект
— сверхвосстаповлсния цитохромов 15
— динамического контроля 16

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие 3
Глава 1
Перенос электронов и преобразование энергии 6
1.1. Общая характеристика преобразования энергии в биомембранах . 6
1.2. Цепь электронного транспорта во внутренней мембране митохондрпй 7
1.3. Переносчики цепи электронного транспорта митохондрий . . . 8
1.4. Комплексы переносчиков — основные структурные единицы ЦЭТ 9
1.5. ЦЭТ фотосинтезирующих бактерий 21
1.6. ЦЭТ хлоропластов 34
1.7. Сопоставление различных ЦЭТ 39
Заключение 44

Глава 2
Вероятностная модель мультиферментного комплекса 45
2.1. Состояния комплекса как случайные события 45
2.2. Вероятность состояний комплекса 49
2.3Условная вероятность. Независимость ферментов, составляющих комплекс 50
2.4. Случайные величины на пространстве ферментных форм . . . 53
2.5. Переходы между ферментными формами как марковский процесс 55
2.6. Уравнения Колмогорова для переходных вероятностей 59
2.7. Уравнения, описывающие поведение мультиферментного комплекса
2.8. Однородность процесса во времени 60
2.9. Собственные значения матрицы коэффициентов уравнений 61
Колмогорова . . . .
2.10. Предельные вероятности состояний 67
Заключение 68
72
Глава 3
Кинетические модели транспорта электронов в биологических системах. . . . .
3.1. Два механизма взаимодействия переносчиков электронов . . . 73
3.2. Перепое электронов в мультиферментных комплексах. Построение 74
модели . . . .
79

3.3. Обоснование вероятностного описания 82
Заключение 82

Глава 4
Сравнение кинетических моделей электронного транспорта . . 84
4.1. Система зацепляющихся уравнений 84
4.2. Описание транспорта электронов через состояния отдельных переносчиков 87
4.3. Независимость редокс-состояний переносчиков — условие применимости закона действующих масс 91
4.4. Симметрия в переносе электронов 93
Заключение 98

Глава 5
Термодинамика редокс-реакций в биологических системах 99
5.1. Сравнение равновесных характеристик переноса электронов . . . 99
5.2. О влиянии кооперативности в переносе электронов на кривые редокс-титрования 104
5.3. Определение сил и потоков для переноса электронов в комплексе 117
Заключение 119

Глава 6
Принцип детального равновесия 120
6.1. Принцип детального равновесия и химический потенциал 120
6.2. Свободная энергия комплекса 125
6.3. Релаксация к стационарному состоянию 134
6.4. Энтропия комплекса 137
6.5. Производство энтропии 140
6.6. Принцип детального равновесия и обратимость во времени 144
Заключение 146

Глава 7
Методы оценки вероятностей состояний комплекса. 147
7.1. Экспоненциальные оценки 148
7.2. Рекуррентный метод получения оценок 154
7.3. Оценки для стационарных вероятностей 157
7.4. Применение неравенств для оценки некоторых характеристик нециклического транспорта электронов 170
Заключение 174

Глава 8
Методы анализа переноса электронов в комплексах 175
8.1. Ограничение на число электронов, находящихся в комплексе, как метод упрощения схемы переходов 175
8.2. Построение квазисостояний 179
8.3. Состояния комплекса, достижимые за время наблюдения . . . 182
8.4. Пример. Нециклический транспорт электронов в хроматофорах пурпурных бактерий 183
8.5. Сведение большого числа одноэлектронных переносчиков к меньшему числу многоэлектронных переносчиков 186
Заключение 190

Глава 9
Кинетическая модель переноса электронов в фотосинтетических реакционных центрах 191
9.1. Обоснование модели 192
9.2. Задание световой константы скорости 194
9.3. Симметрия переноса электронов на донорной и акцепторной сторонах ФРЦ. 195
9.4. Импульсный режим возбуждения 197
9.5. Циклический поток электронов 200
Заключение 204

Глава 10
Стационарные характеристики переноса электронов в ФРЦ . . . 205
10.1. Сведение к двум многоэлектронным переносчикам 205
10.2. Величина стационарной скорости переноса электронов через комплекс 210
10.3. Стационарные вероятности состояний ФРЦ 211
10.4. Точные решения для схем переноса электронов в комплексе двух многоэлектронных переносчиков 219
10.5. Стационарное периодическое освещение 223
Заключение 229

Глава 11
Переходные характеристики переноса электронов в фотосинтетических реакционных центрах. 230
11.1. Усреднение электронов по переносчикам 230
11.2. Процесс темповой релаксации 231
11.3. Кинетика переходных процессов при включении света 238
Заключение 244

Глава 12
Кинетика восстановления бактериохлорофилла, окисленного импульсным и постоянным светом в хроматофорах пурпурных бактерий 245
12.1. Схема переноса электронов 246
12.2. Кинетическая модель 247
12.3. Импульсное освещение. 249
12.4. Стационарное освещение 252
12.5. Иллюстрация модели 255
Заключение 256

Глава 13
Функционирование вторичного хинона в первичных реакциях бактериального фотосинтеза 259
13.1. Стабилизация семихинонной формы вторичного хинона 259
13.2. Кинетическая модель двухтактных колебаний концентрации семихинона 265

13.3. Характеристика двухтактных колебаний 269
13.4. Методы определения $\alpha+\beta$ 273
13.5. Зависимость двухтактных колебаний семихинона от различных условий. 276
Заключение 283

Заключение 286

Литература 288

Предметный указатель 313

Андрей Борисович
Рубин,
Владимир Павлович
Шинкарев

ТРАНСПОРТ ЭЛЕКТРОНОВ
В БИОЛОГИЧЕСКИХ
СИСТЕМАХ

Утверждено к печати
Московским обществом
испытателей природы

Редактор П. С. Венедиктов
Редактор издательства Э. И. Николаева
Художественный редактор М. В. Версоцкая
Технический редактор С. Г. Тихомирова
Корректоры Г. Н. Джиоева, И. А. Талалай

ИБ № 27741

Сдано в набор 28.12.83
Подписано к печати 27.03.84
Т-05556. Формат 60х90 1/16
Бумага типографская № 2
Гарнитура литературная
Печать высокая
Усл. печ. л. 20. Уч.-изд. л. 22,1. Усл. кр. отт. 20,125
Тираж 1600 экз. Тип. зак. 4821
Цена 3 р. 40 к.

Издательство «Наука»
117864 ГСП-7, Москва В-485 Профсоюзная ул., 90.

2-я типография издательства «Наука»
121099, Москва, Г-99, Шубинский пер., 10

3р.40к



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»

А.Б. РУБИН, В.П. ШИНКАРЕВ